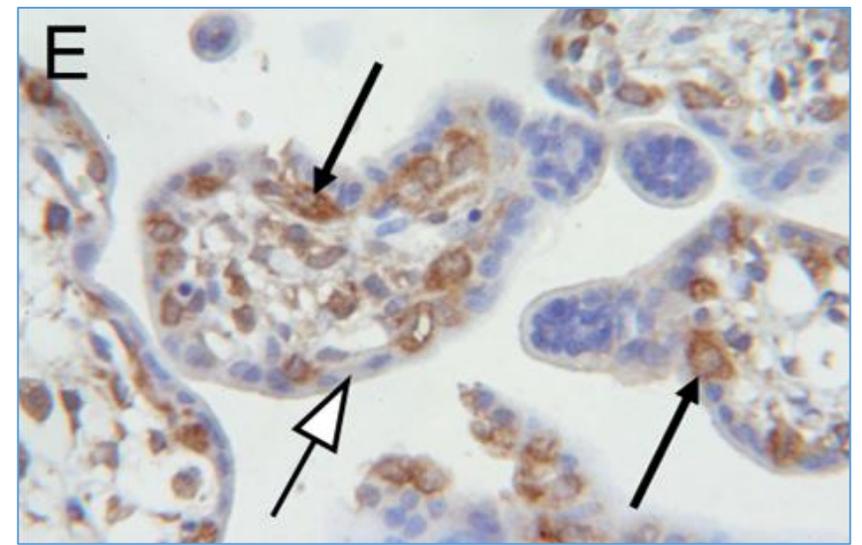


Viren und Funktionsweise des Immunsystems.
Nachweis viraler Infekt (PCR),
Wirkungsweise mRNA-Technologien



Viren – ein Teil von uns

- Viren begleiten uns Menschen seit über 100 Millionen Jahren unserer Entstehungsgeschichte.
- Sie sind teilweise so eng mit uns verbunden, dass ca. **8% unseres Erbgutes** aus Viruserbsubstanz bestehen.
- Diese eingebauten Viren nennen sich „humane endogene Retroviren“ (HERV).
- HERVs steuern einige entscheidende Funktionen für unser Dasein, so ist z.B. ein Hüllprotein eines HERV ein entscheidender **Baustein einer funktionierenden Plazenta und damit für unsere Fortpflanzung entscheidend.**
- Auch unsere **Immunantwort wird von HERV-Funktionen** mitgesteuert, je nachdem wo diese Viren in unserem Genom sitzen, können sie Probleme wie Autoimmunitäten begünstigen, in den meisten Fällen jedoch stärken virale Bestandteile unsere Immunabwehr gegen Viren und Keime, die uns von außen befallen.

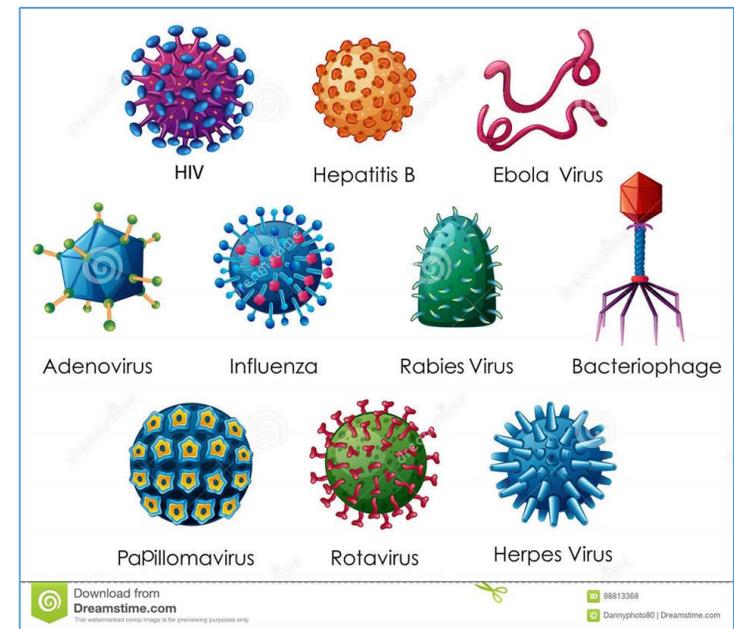


Was sind Viren: Definition

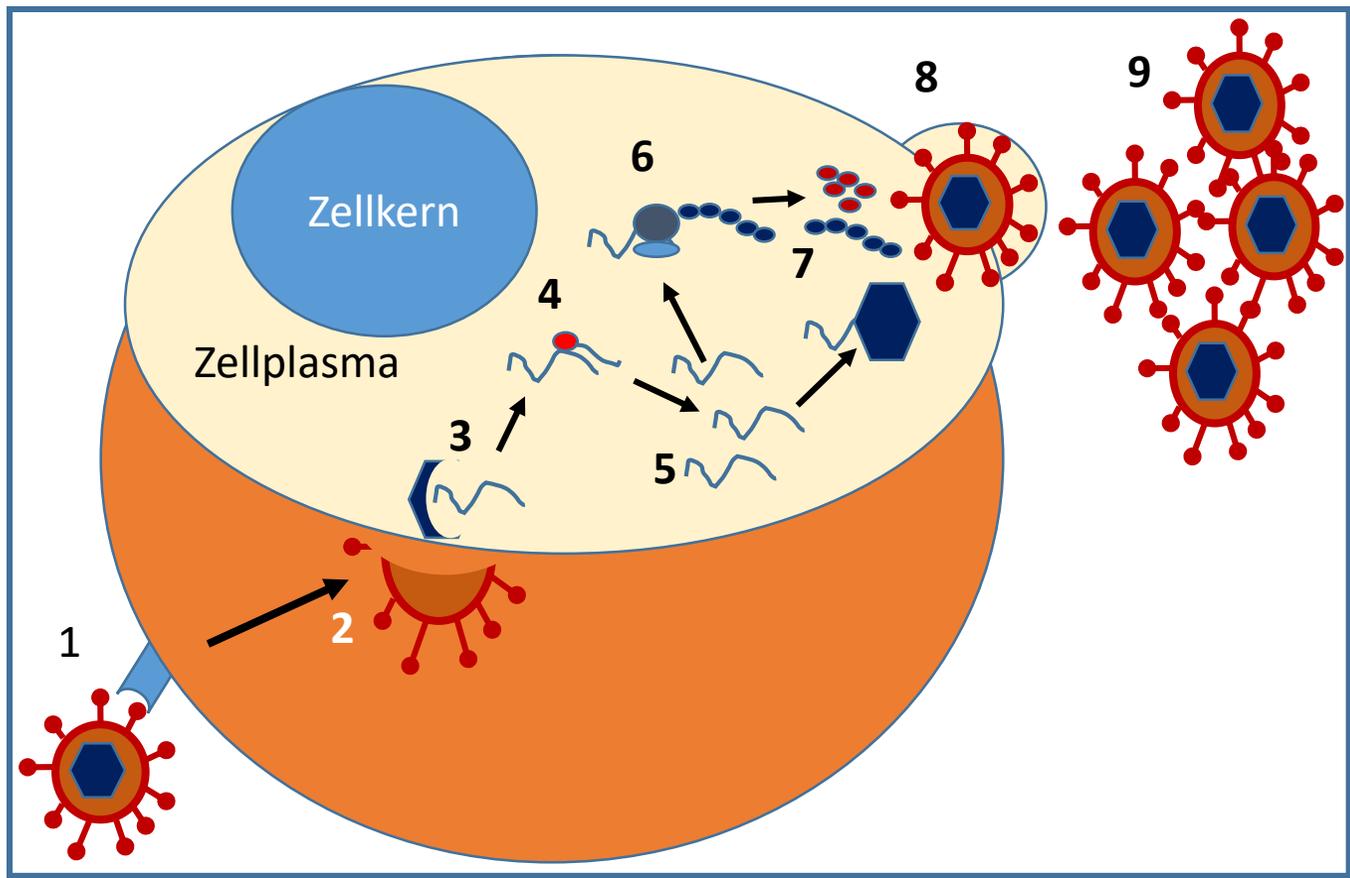
Einzahl: das Virus, von lat. virus, -i, n. „Gift, Saft, Schleim“

Viren sind

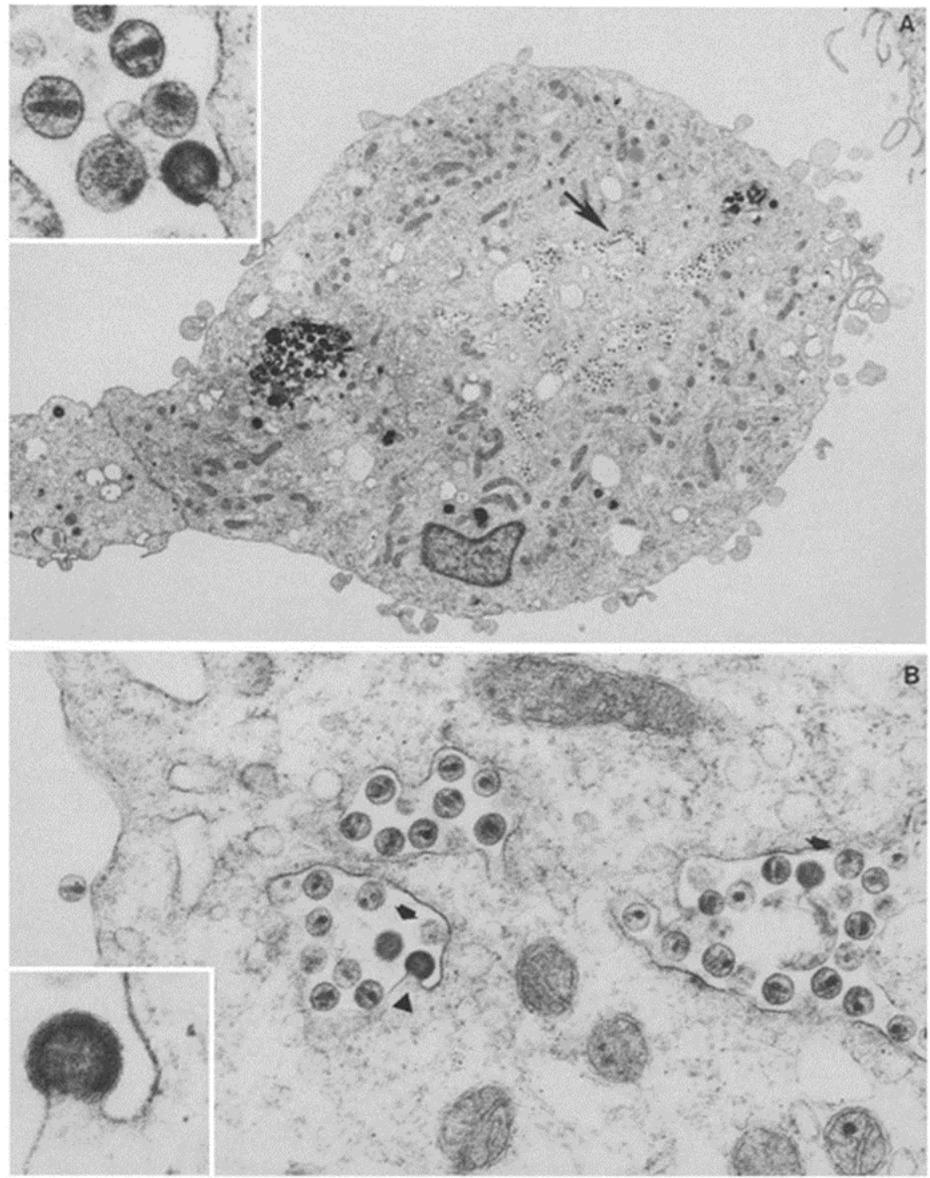
- extrem kleine Partikel, die nicht mit einem Licht- Mikroskop,
- sondern nur mit einem Elektronenmikroskop (1951 erstmals im Einsatz) dargestellt werden können.
- Sie können kugelförmig (mit Hülle), polygon (ohne Hülle) mit und ohne Oberflächen-„Knöpfchen“ (Spikes) oder auch fadenförmig (Filoviren) aussehen
- Viren sind **obligat intrazelluläre Parasiten mit einer infektiösen extrazellulären Phase (Virion).**
- **Sie enthalten entweder DNA oder RNA als genetisches Material, und sind für Ihre Vermehrung vom Stoffwechsel ihrer Wirtszelle abhängig.**



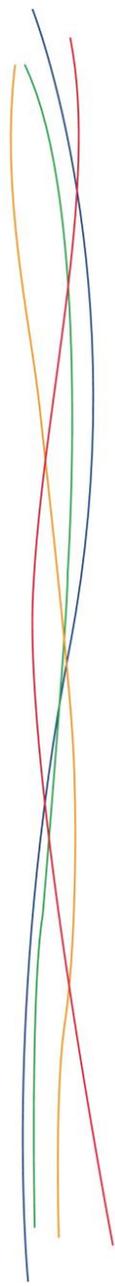
Vermehren von Viren in Zellen



Beispiel: Coronaviren

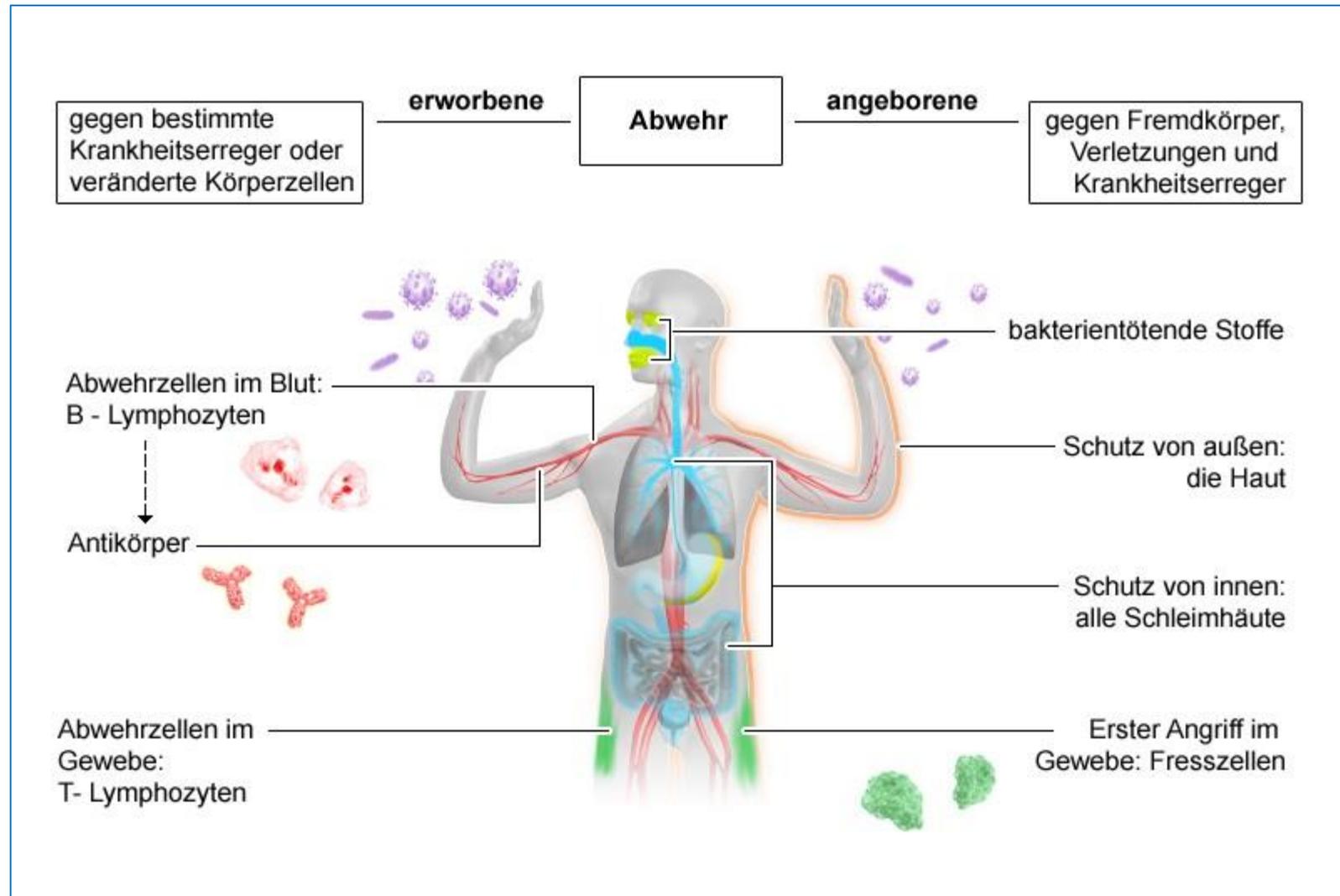


EM-Aufnahmen HI-Viren



Damit Viren nicht erst in Zellen gelangen und sich dort vermehren können bzw. dass der Anteil infizierter Zellen möglichst schnell eingegrenzt wird:

Immunsystem



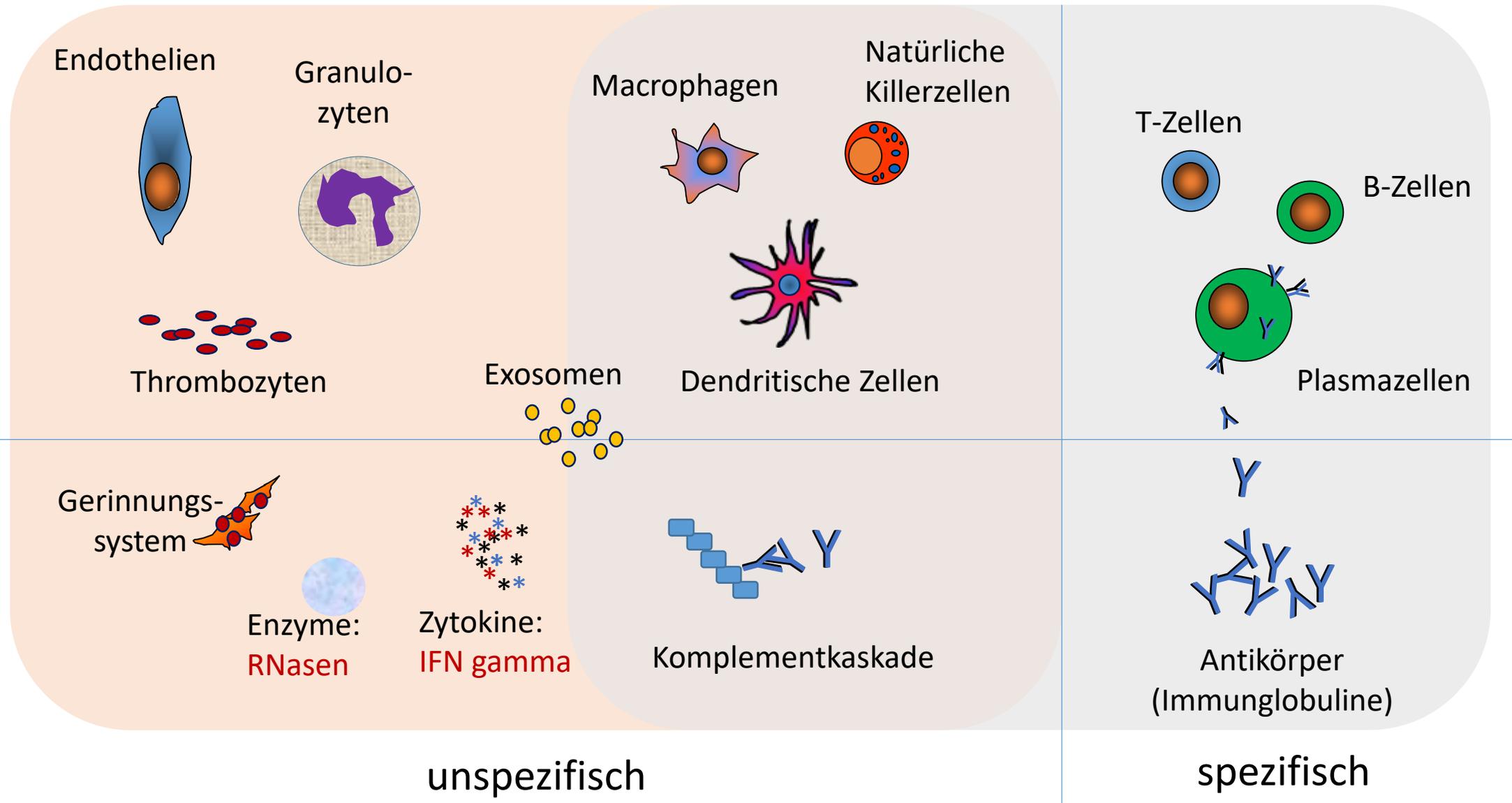
Komponenten des Immunsystems

angeboren

erworben (adaptiv)

zellulär

löslich/humoral



Modifiziert nach: Die Rolle des angeborenen Immunsystems bei COVID-19: ein zweischneidiges Schwert (trillium.de)



Abwehr eindringender respiratorischer Viren

Bei erstmaligem Kontakt mit dem Erreger: angeborenes Immunsystem

Viren noch außerhalb der Zellen (z.B. auf den Schleimhäuten):

- 1) Zelluläre Abwehr über: Endothelien, Granulozyten, Monozyten, Makrophagen, natürliche Killerzellen, dendritische Zellen
- 2) Makromoleküle: Zytokine, Komplementsystem, Proteasen, Nukleasen (RNAse, DNase), usw.
- 3) niedermolekulare Substanzen (ROS, Stickstoffmonoxyd)

Sollten die Viren dennoch in die Zellen eingedrungen sein:

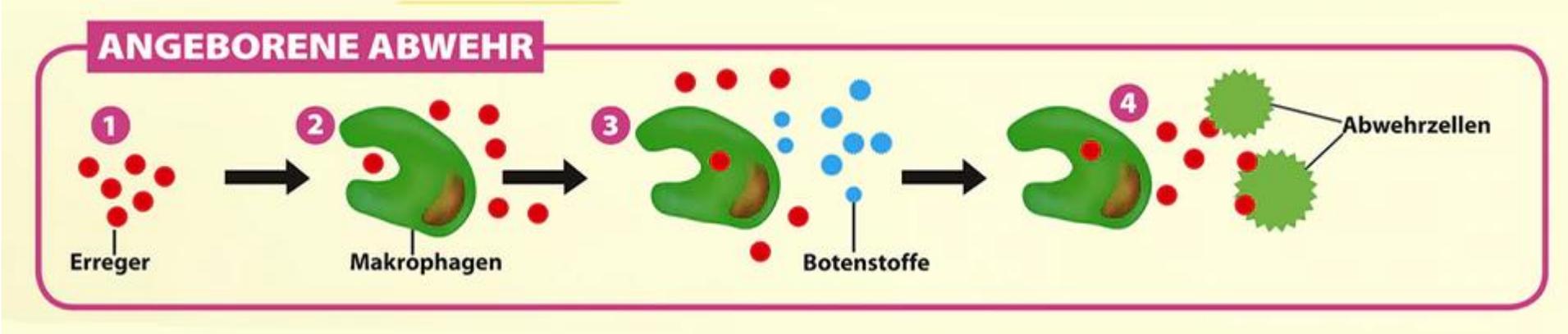
Es existiert in allen Körperzellen eine speziell gegen Viren gerichtete Nukleinsäureimmunität. Sie erkennt fremde RNA- und DNA-Strukturen (PAMPs = pathogen-associated molecular patterns, TLRs: Toll-like Rezeptoren) und kann Viren an der Replikation hindern. (Hinweis: daher wurde die „Impf-RNA“ modifiziert, damit diese nicht abgebaut werden kann und keine Immunaktivierung über TLRs macht)

Die infizierte Zelle sendet Signale (Zytokine) nach außen, über die Killerzellen angelockt werden und die infizierte Zelle zerstören.

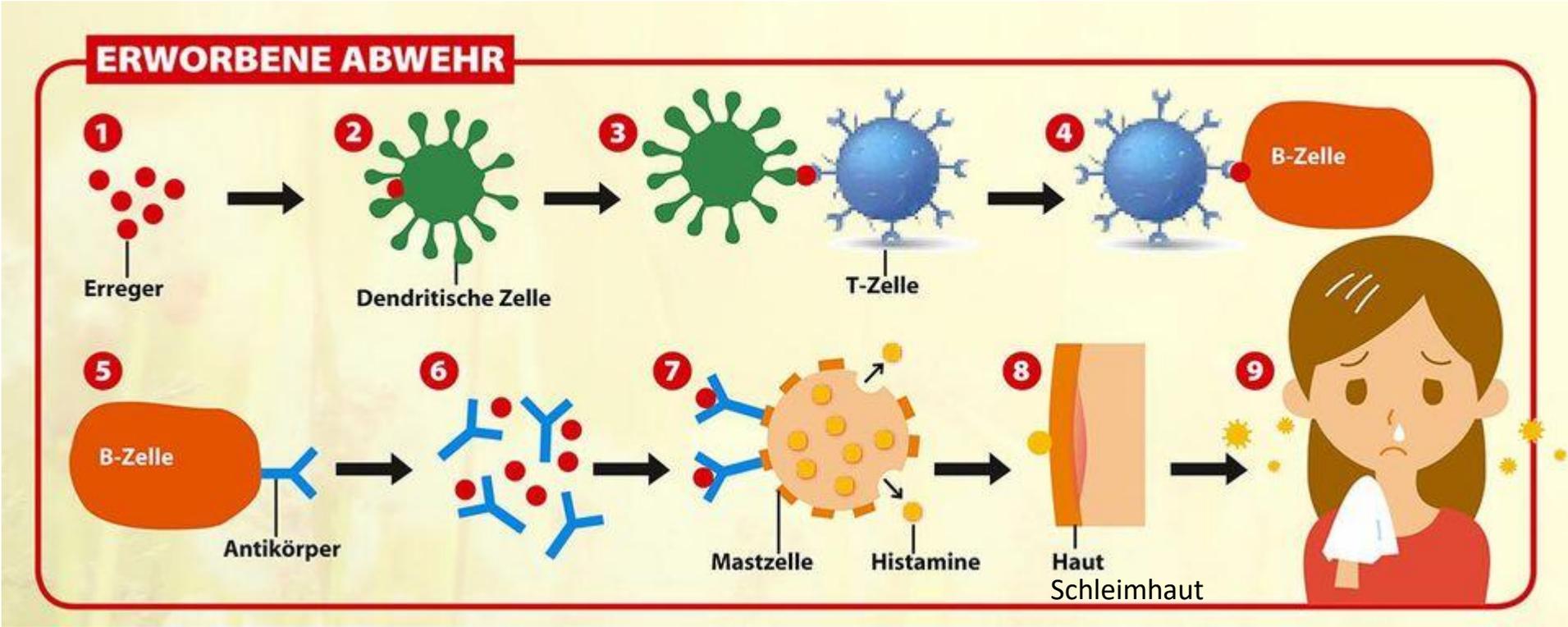


Abwehr eindringender respiratorischer Viren

Erstkontakt ohne Vorimmunität



Kontakt bei bestehender Vorimmunität / Kreuzimmunität
 Beta-Coronaviren:
 40-60% Kreuzimmunität



<https://www.geo.de/geolino/mensch/17020-rtkl-gesundheit-so-funktioniert-das-immunsystem>

„Tag 8 Krankheit“

„Erkältung/Grippe“



Besonderheiten COVID-19 Erkrankung

Bei schwerem Verlauf: Mikrothromben, Fibrosierung der Lunge

Kasuistik

Fall 1: Bei dem 45jährigen Mann war im September [redacted] bei einer Röntgen-Kontrolluntersuchung keine Lungenerkrankung festgestellt worden. Am [redacted] traten die Zeichen einer typischen Grippe mit Fieber bis 39 °C, Schüttelfrost und Durchfälle auf. Am [redacted] stellte sich relatives Wohlbefinden ein. In der darauffolgenden Nacht kam es plötzlich zu starker Atemnot und allgemeiner Zyanose, was zur Einweisung in das Krankenhaus [redacted] veranlaßte.

2-phasiger Verlauf!
(„Tag 8 Krankheit nach Dr. Chetty“)

Obduktion:

den beginnend zerfallenden Exsudatzellen dokumentierte. Nicht selten lagen in den Zentren der Gebiete mit Pneumonie und hämorrhagischem Infarkt frische anämische Nekrosen mit beginnender leukozytärer Infiltration vor. In allen Lungenabschnitten, auch außerhalb von Pneumonie und Infarkt, wo bloß ein kräftiges Ödem vorherrschte, fanden sich in erweiterten Kapillaren verklumpte Erythrozyten zwischen einhüllenden Fibrinfäden. Dieser Befund war außerhalb der Lungen und des Tracheobronchialsystems nicht feststellbar. In den

Besonderheiten COVID-19 Erkrankung und Grippe

Bei schwerem Verlauf: Mikrothromben, Fibrosierung der Lunge

Kasuistik

Fall 1: Bei dem 45jährigen Mann war im September 1969 bei einer Röntgen-Kontrolluntersuchung keine Lungenerkrankung festgestellt worden. Am 22. 12. 1969 traten die Zeichen einer typischen Grippe mit Fieber bis 39 °C, Schüttelfrost und Durchfälle auf. Am 3. 1. 1970 stellte sich relatives Wohlbefinden ein. In der darauffolgenden Nacht kam es plötzlich zu starker Atemnot und allgemeiner Zyanose, was zur Einweisung in das Krankenhaus (4. 1. 1970) veranlaßte.

2560

Haferkamp, Matthys: Grippe und Lungenembolien

Deutsche Medizinische Wochenschrift

Grippe und Lungenembolien*

O. Haferkamp und H. Matthys

Abteilung für Pathologie I (Leiter: Prof. Dr. O. Haferkamp)
und Sektion für Pulmonologie (Leiter: Dr. H. Matthys)
im Zentrum für Innere Medizin und Kinderheilkunde der Universität Ulm

Die Grippe-Epidemie 1969/70 fiel durch einige Besonderheiten im Verlauf und, bei letalem Ausgang, im anatomischen Bild auf. Das geht aus den Befunden bei acht von 16 Grippe-Patienten hervor, die während dieser Epidemie verstorben und obduziert worden waren: Es bestand eine Kombination von Grippe und Thrombo-Embolien. Anhand von zwei dieser acht Obduktionsfälle werden die



Zur Therapie

Nach Bekanntwerden der Kombination von Grippe und Thrombo-Embolie durch das Obduktionsergebnis haben wir uns bei der Behandlung der letzten Grippefälle zusätzlich zur Schockbekämpfung sowie zur assistierten und kontrollierten Beatmung zur Antikoagulation (40 000 E Heparin/d) unter der Vorstellung entschlossen, daß hierdurch weitere Thrombo-Embolien verhindert werden könnten. Darüber hinaus führten wir eine Antikoagulationsbehandlung in dieser Weise unabhängig von der Grippe auch bei allen anderen Erkrankungsfällen durch, die der Respiratorbehandlung bedurften. Wir haben nach Beginn dieser Therapie keine weiteren Grippe-Todesfälle mehr gehabt. Es erscheint möglich, daß dieses Ergebnis ein Erfolg der Antikoagulation und nicht rein zufällig war. Sollten sich bei einer erneuten Epidemie wieder zur Grippe Zyanose und Kreislaufschock hinzugesellen, so sollte man Embolien und besonders Mikroembolien in die Lunge diagnostisch und therapeutisch in Erwägung ziehen.



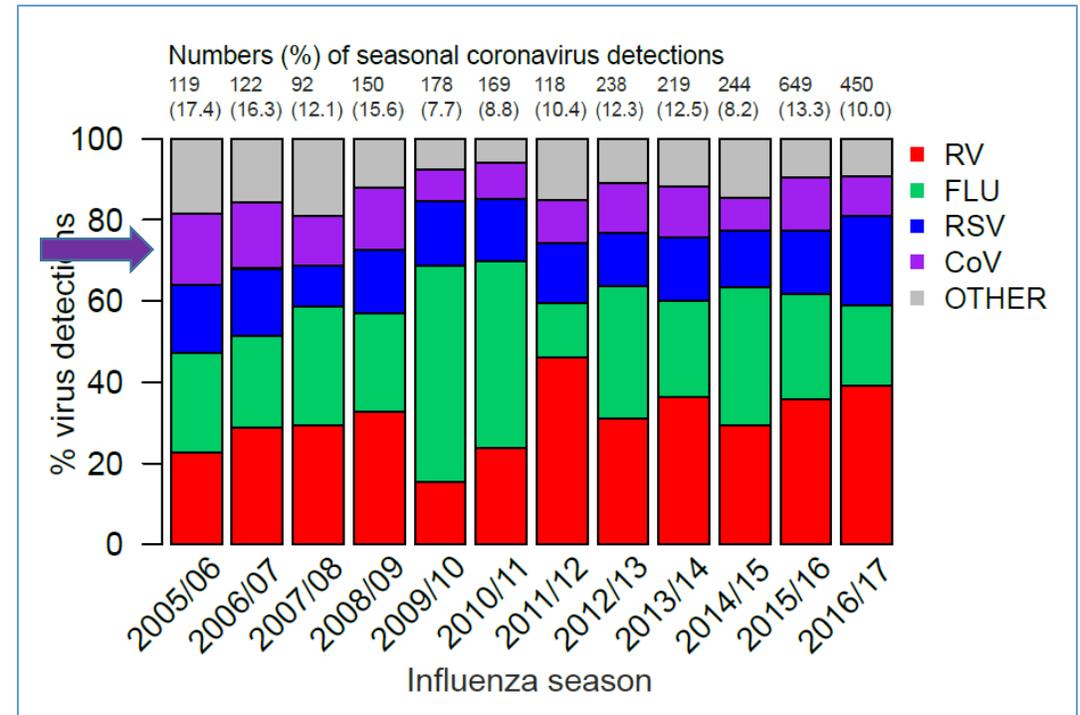
Influenza oder „Corona“?

Während 12 Wintersaisons,
wurde die gleiche Gruppe von Viren gefunden mit
geringen Schwankungen in den Anteilen -

unter ihnen waren Coronaviren (violett) immer vorhanden

Spekulation: waren bei der Grippe-Epidemie 1969/1970
Coronaviren beteiligt?

Nickbakhsh S2020 J. Infect. Dis (doi: [10.1093/infdis/jiaa185](https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa185))

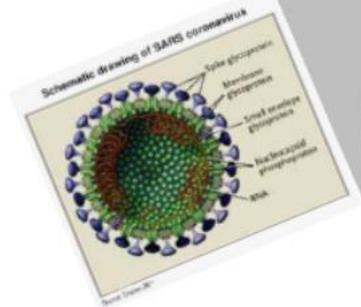


Influenza oder „Corona“?



1.7 Symptoms of the diseases caused by human coronavirus

- Headache
- Fever
- Overall soreness and ache
- Flu symptoms
- Chills
- Dry cough
- Vomiting



HCoV-OC43
Hamre D, et al. 1966

HCoV-229E
Tyrrell D.A.J, et al. 1965

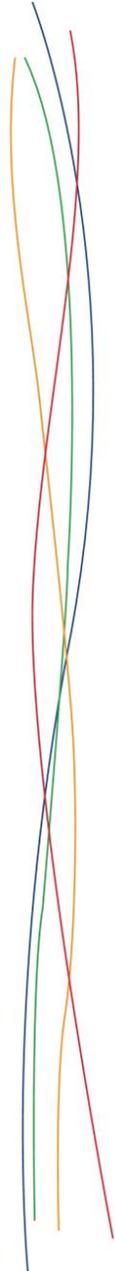
HCoV-NL63
Lia van Hoek, et al. 2004

HCoV-HKU1
Patrick CYW, et al. 2005

SARS-CoV
Drosten C, et al. 2003

MERS-CoV
Ali Moh Zaki, et al. 2012

2019-nCoV
Zhu N, et al. 2020



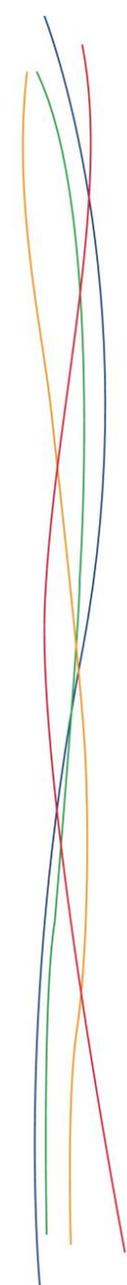
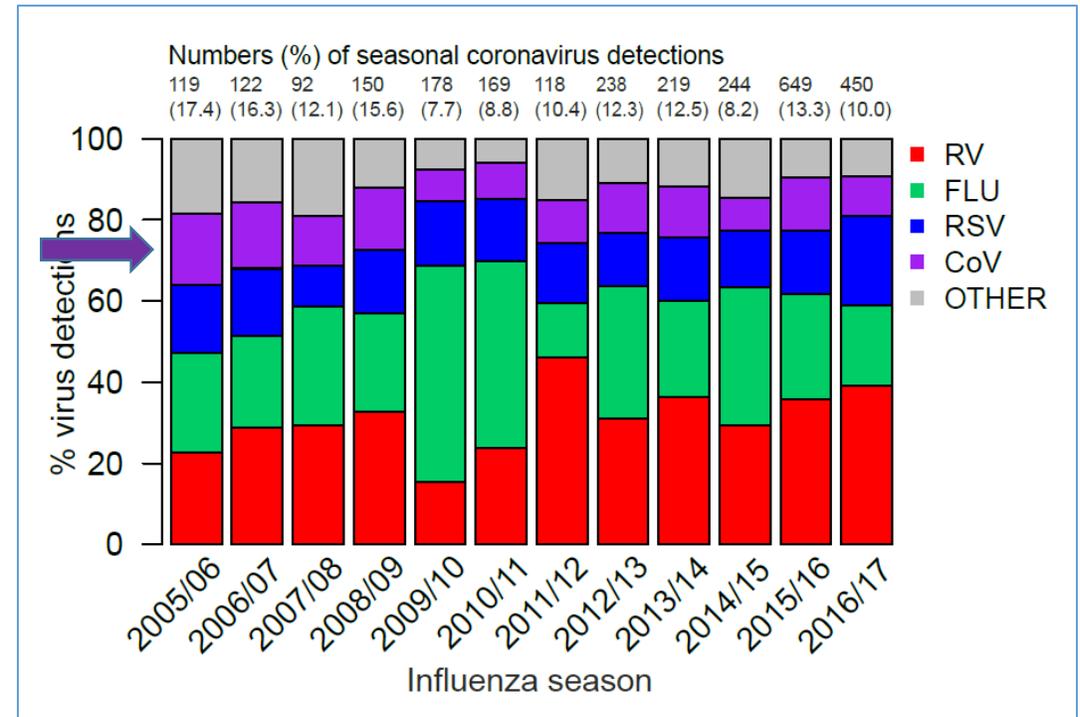
Influenza oder „Corona“?

Während 12 Wintersaisons, wurde die gleiche Gruppe von Viren gefunden mit geringen Schwankungen in den Anteilen -

unter ihnen waren Coronaviren (violett) immer vorhanden

Spekulation: waren bei der Grippe-Epidemie 1969/1970 Coronaviren beteiligt?

Nickbakhsh S2020 J. Infect. Dis (doi: [10.1093/infdis/jiaa185](https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa185))



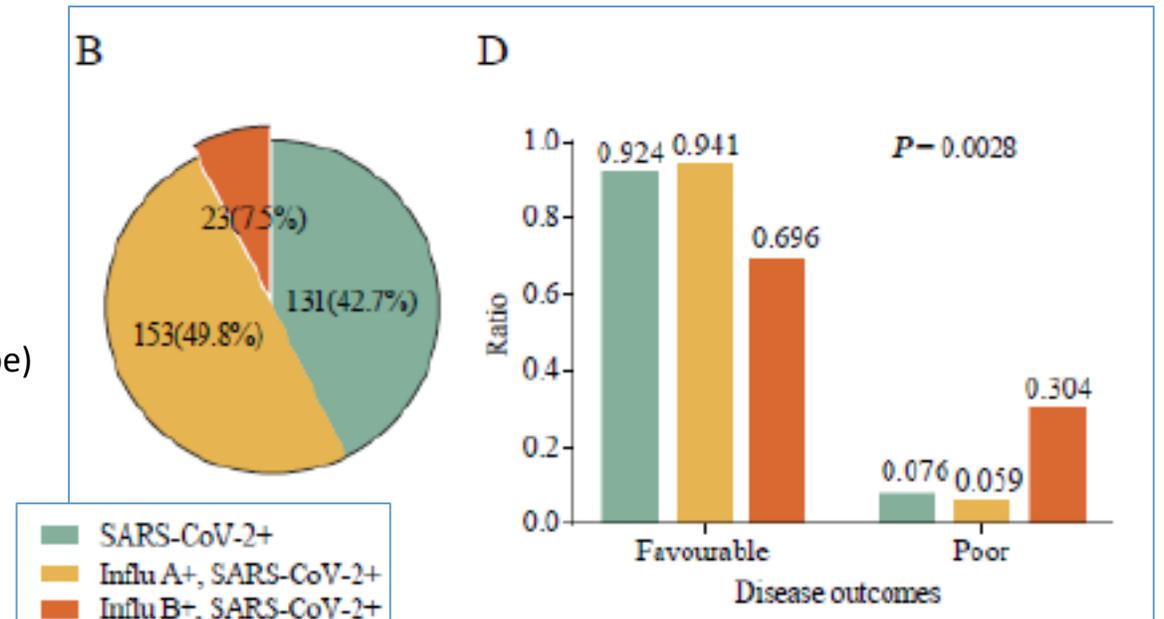
Bereits beim ersten Ausbruch in Wuhan: Doppelinfektionen

“It was found that co-infection of SARS-CoV-2 and influenza virus was common during COVID-19 outbreak.”

Es wurde gefunden, dass eine Konfektion von SARS-CoV-2 und Influenza (Grippe) während des Covid-19 Ausbruches üblich war

Die Betroffenen mit SARS-CoV-2 UND Influenza B hatten die schwersten Verläufe

Yue H 2020 J. Med. Virol (doi: [10.1002/jmv.26163](https://doi.org/10.1002/jmv.26163))



Symptome COVID-19 Erkrankung und saisonale „Grippe“

Hauptproblem: Lungenentzündung (Pneumonie)

Panel: Viruses linked to community-acquired pneumonia in children and adults

- Respiratory syncytial virus
- Rhinovirus
- Influenza A, B, and C viruses
- Human metapneumovirus
- Parainfluenza viruses types 1, 2, 3, and 4
- Human bocavirus*
- Coronavirus types 229E, OC43, NL63, HKU1, SARS
- Adenovirus
- Enteroviruses
- Varicella-zoster virus
- Hantavirus
- Parechoviruses
- Epstein-Barr virus
- Human herpesvirus 6 and 7
- Herpes simplex virus
- Mimivirus
- Cytomegalovirus†
- Measles‡

*Mostly in children. †Mostly in developing countries.

Góes LGB 2019 J. Med. Virol
(doi: 10.1002/jmv.25636)

Typische Symptome häufiger Krankheiten, die durch Atemwegs-
viren ausgelöst werden: keine Besonderheiten bei Coronaviren

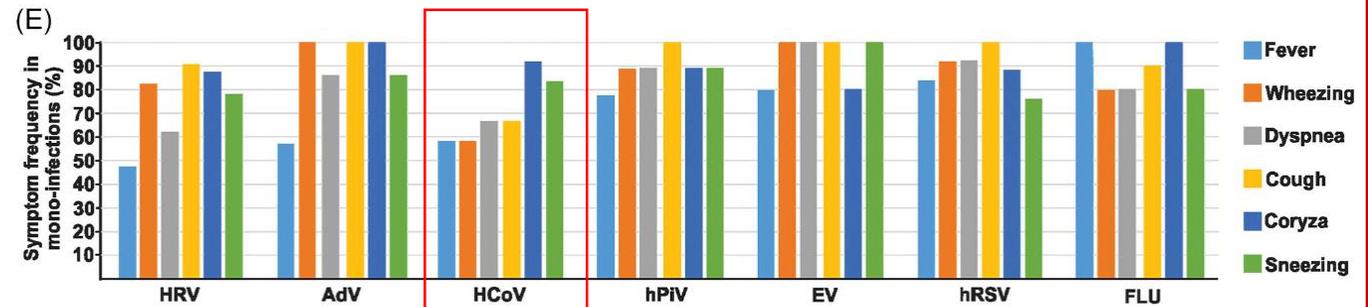
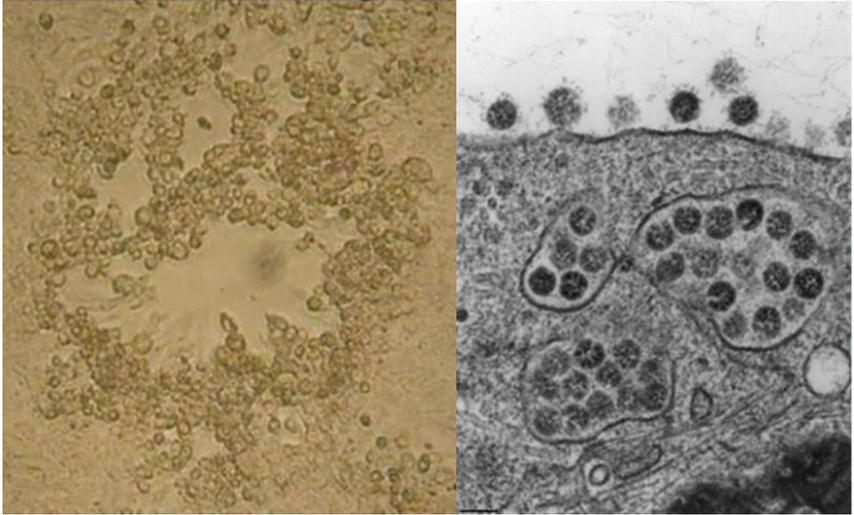


Table 4. Comparison of symptom frequency between the studied diseases

Variable	COVID 19	Influenza	SARS	Common cold
Number of cases	1374	2470	282	1274
Fever Fieber	1014 (74%)	848 (68%)	281 (100%)	510 (40%)
Sore throat Halsschmerzen	169 (12%)	2075 (84%)	50 (18%)	1070 (84%)
Rhinorrhea Schnupfen	61 (4%)	2248 (91%)	34 (12%)	1032 (81%)
Headache Kopfschmerzen	290 (21%)	2248 (91%)	128 (45%)	1134 (89%)
Cough Husten	966 (70%)	2298 (93%)	179 (63%)	1019 (80%)
Myalgia Muskelschmerzen	401 (29%)	2321 (94%)	155 (55%)	1198 (94%)

“Aufgrund der **unspezifischen Symptome** von COVID-19 kann die **Diagnose nicht allein anhand der klinischen Symptome gestellt werden; nur Labortests können die Diagnose bestätigen.** Das Vorhandensein eines breiten Spektrums von Allgemeinsymptomen (Kopfschmerzen, Schnupfen, Muskelschmerzen und Halsschmerzen) sollte Ärzte dazu veranlassen, klinisch eher eine Grippe oder eine Erkältung als COVID-19 zu vermuten”

Virusvermehrung in der Zelle und Labordiagnostik

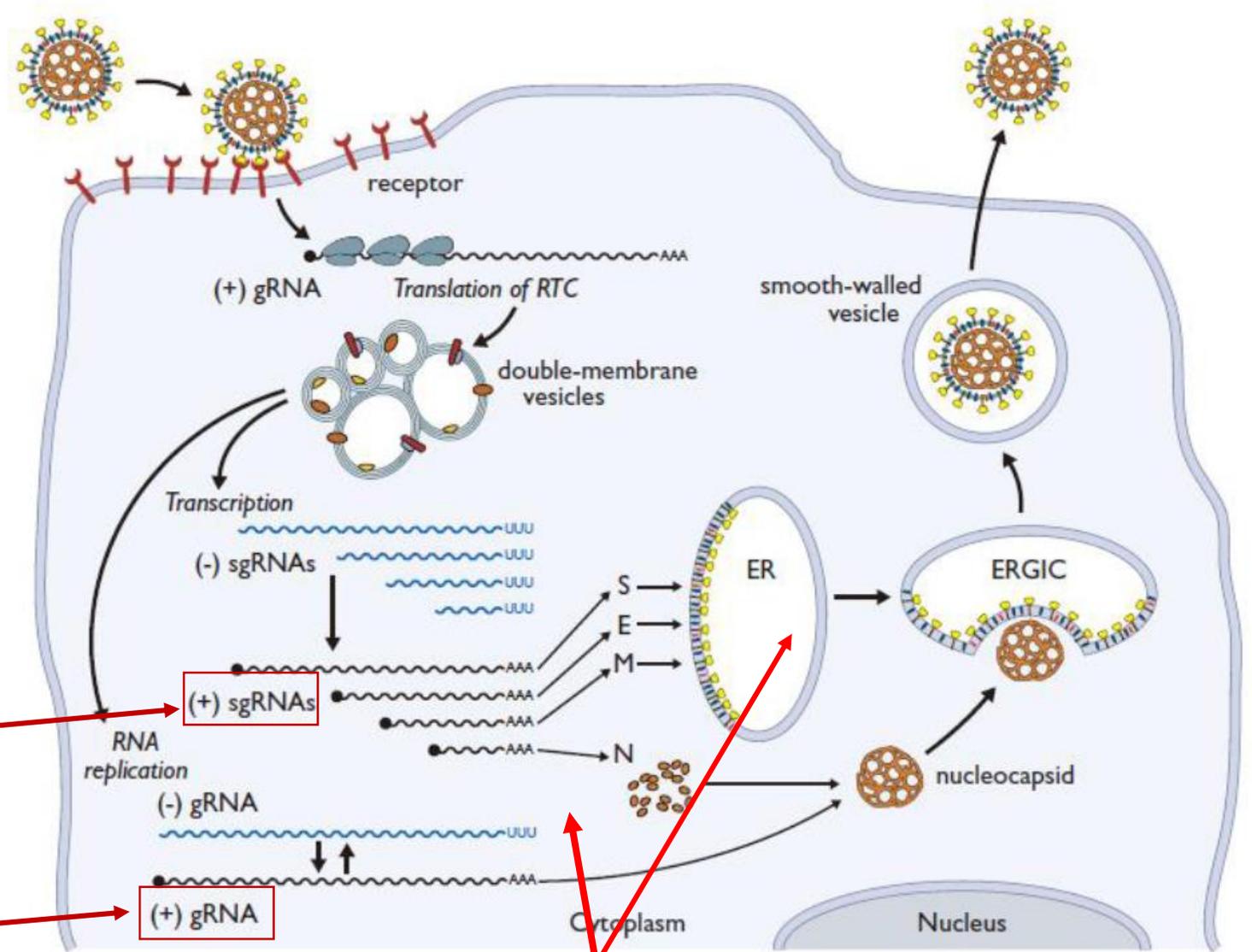


Virusanzucht und Elektronenmikroskopie:
Gold-Standard, aber aufwendig

**Daher moderner: Virus-RNA wird
mittels RT-PCR nachgewiesen**

Sub-genomische RNA:
Fällt nur bei der
Vermehrung des Virus in der Zelle an

Genomische RNA:
wird im Virion verpackt:
Das ist die RNA die in allen kommerziellen Tests
nachgewiesen wird

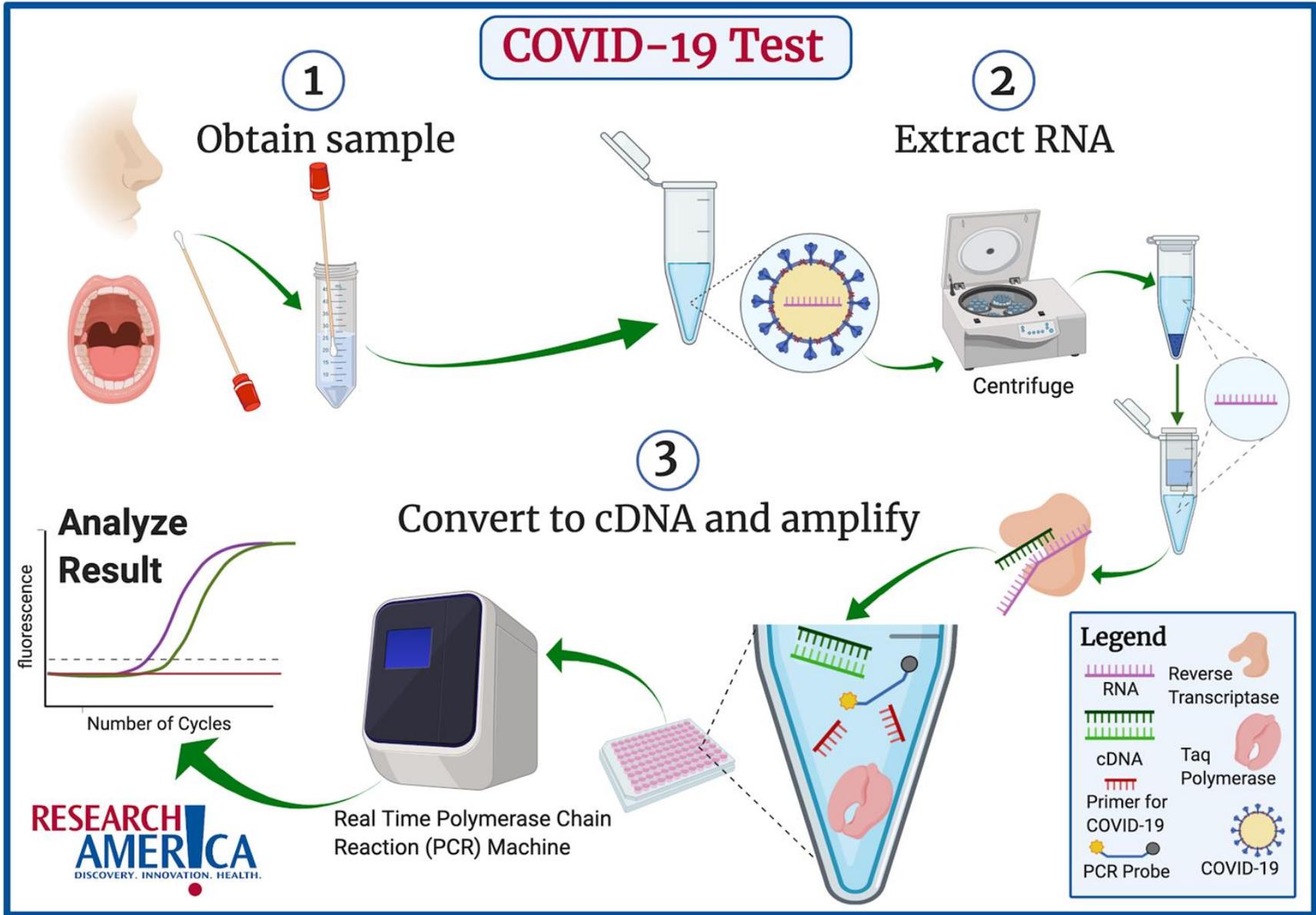


(+) sgRNAs

(+) gRNA

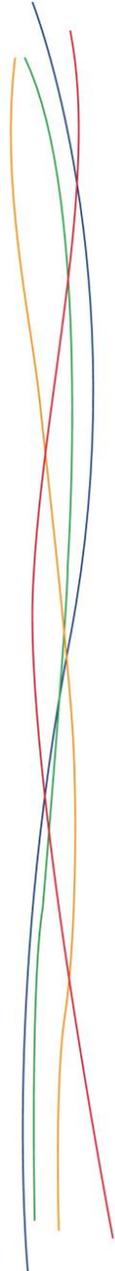
Virus-EiweiÙe (Antigene)
werden mit Antigentests (Schnelltests) nachgewiesen

RNA-Nachweis mittels RT-qPCR: Von der Probe zum Ergebnis



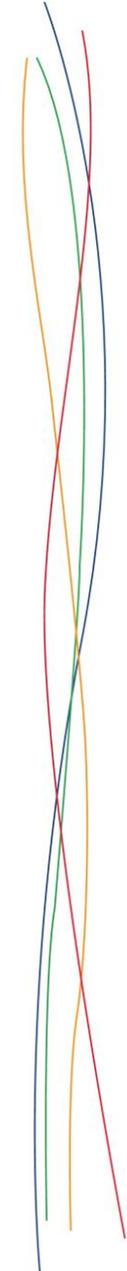
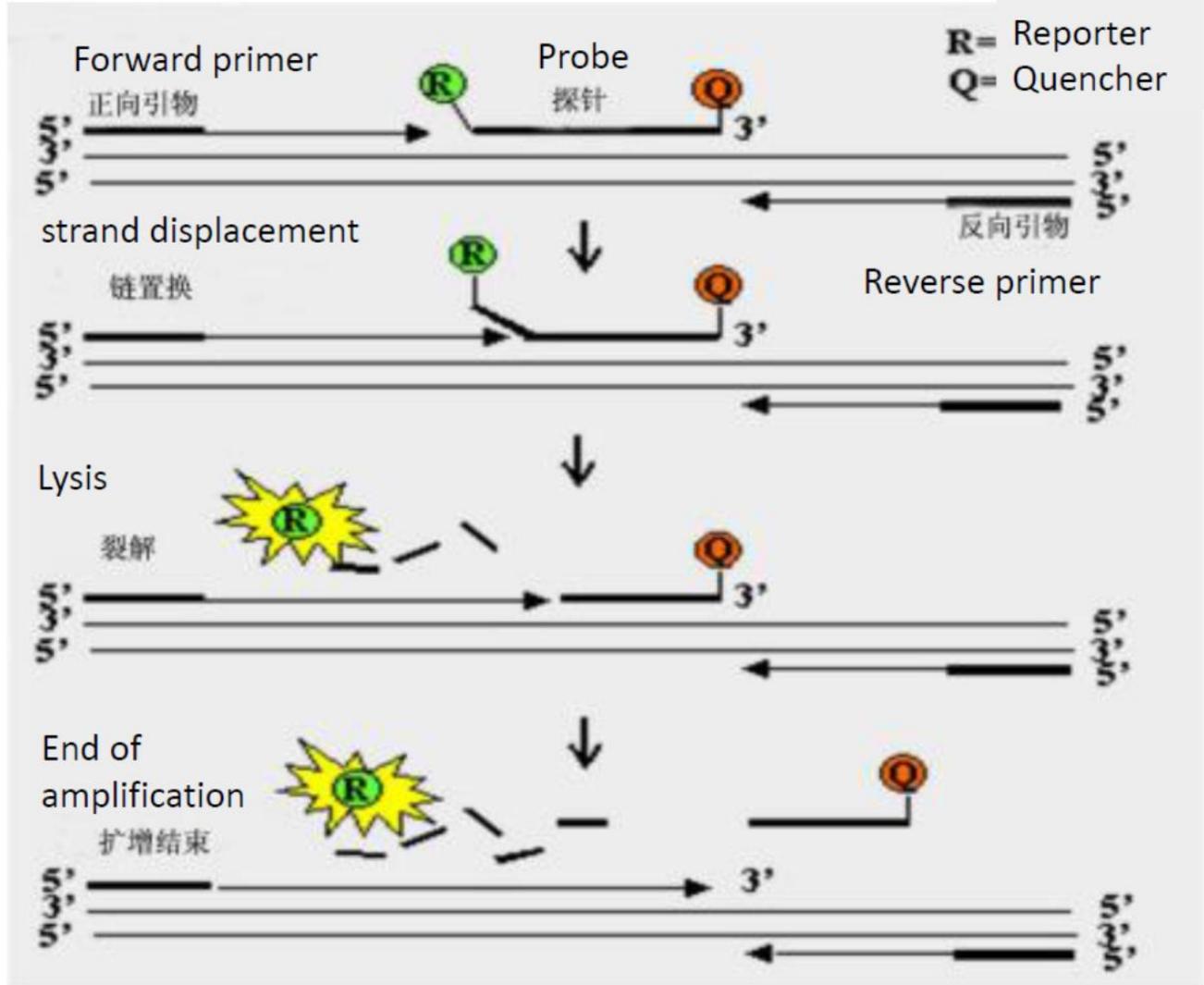
Ab hier (2) sind nur noch Makromoleküle (Eiweiße, Nukleinsäuren) in der Probe vorhanden: Keine intakten Erreger mehr – Keine vermehrungsfähigen Viren!

Damit kann der Test technisch definitiv keinen sicheren Hinweis auf vermehrungsfähige Viren geben

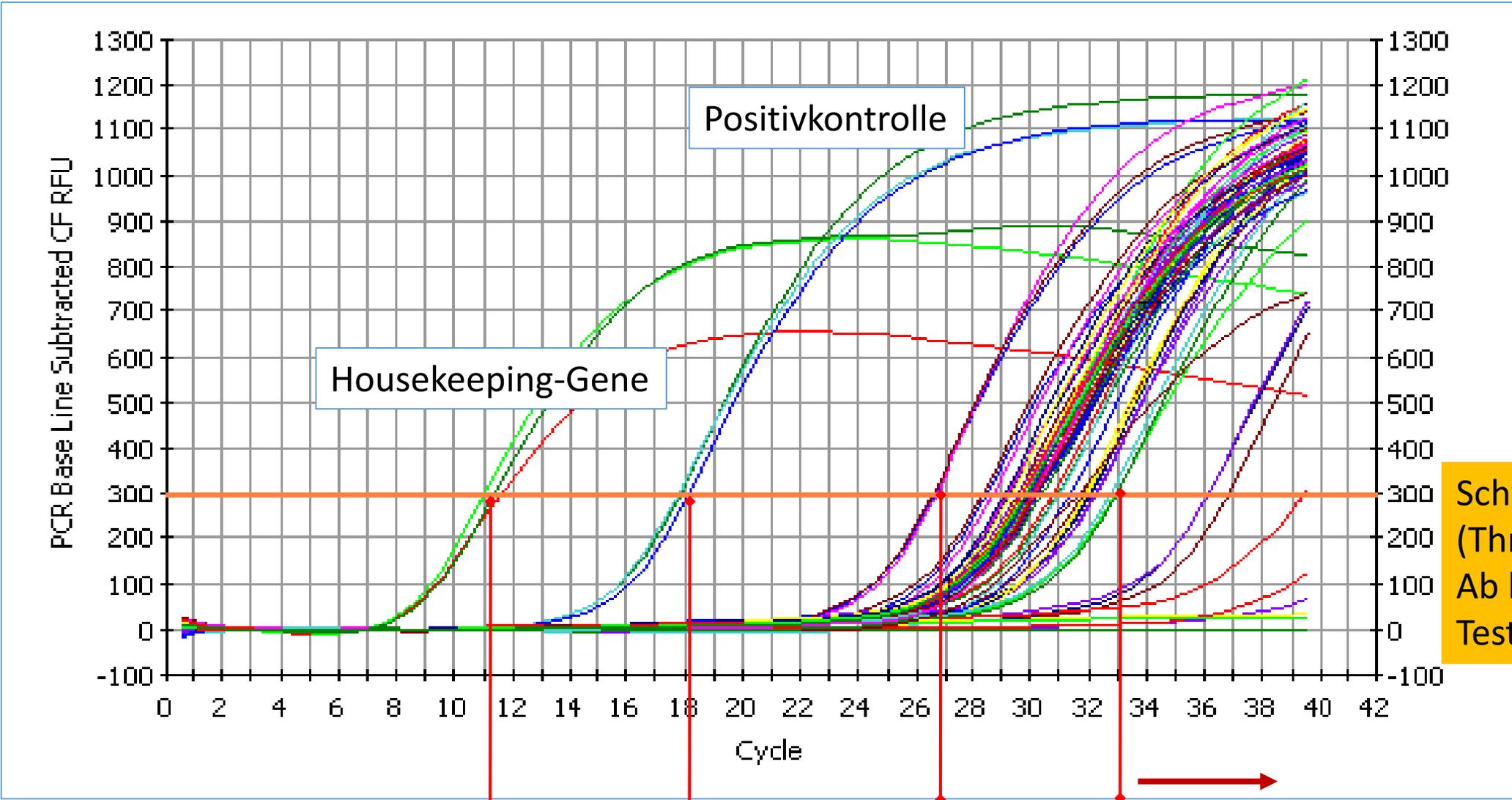


Die quantitative PCR (qPCR)

Real time RT-PCR



Typische Kurven einer qPCR: Bedeutung des CT-Wertes



Schwellenwert (Threshold/ CT):
Ab hier wird der Test positiv bewertet

CT=11

CT=18

CT=27-33:
Hier echt positive Proben

Ab CT=33 und mehr:
Hier kommen die negativen Proben dann ins „Positive“

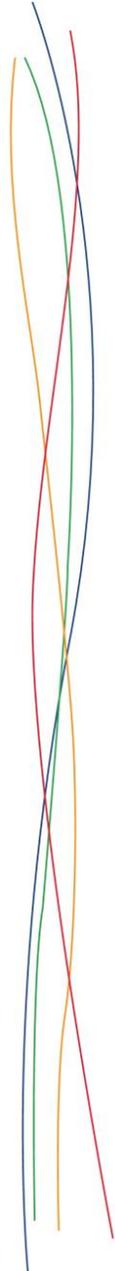


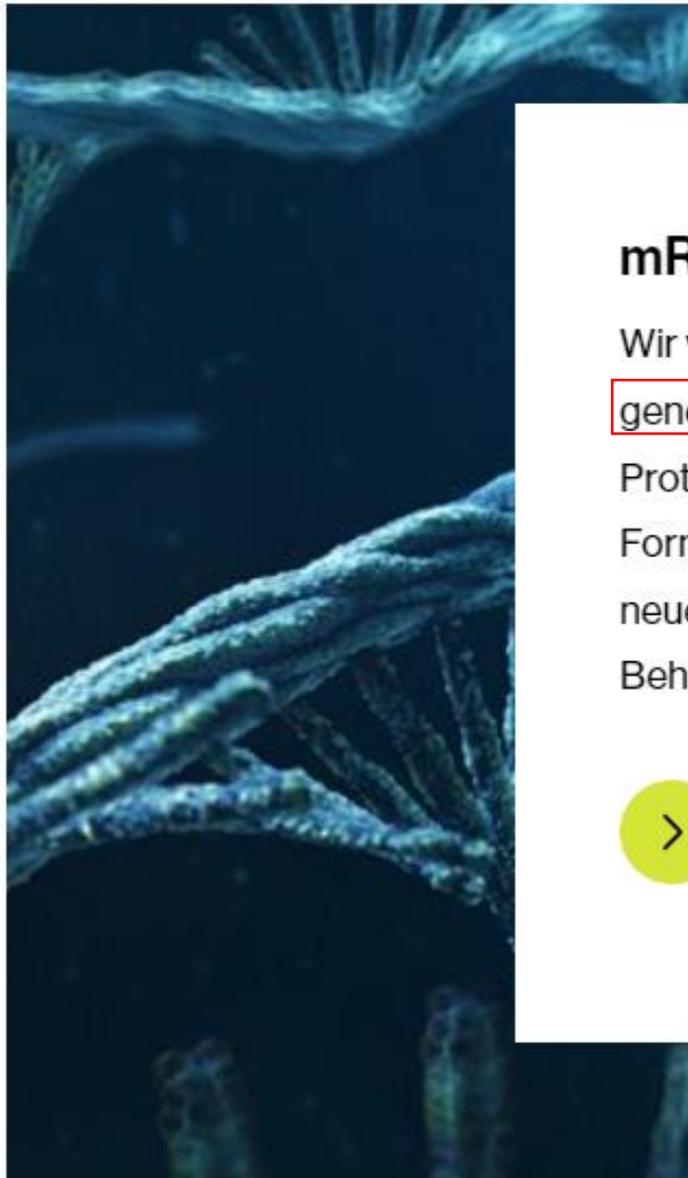
Die sicheren, wirksamen und nebenwirkungsfreien „Impfungen“ gegen SARS-CoV-2 Beispiel: RNA-Lipidgemische von Pfizer/Biontech



**BACK TO LIFE!
IMPFUNGEN
OHNE TERMIN**
#ÄrmelHoch gegen Corona

- Einfach vorbeikommen, Mo bis So | 9 bis 19 Uhr
 - Impfstoff frei wählbar: BioNTech/Pfizer, Moderna, Johnson & Johnson, AstraZeneca
 - Für alle ab 12 Jahren mit Wohnsitz in Deutschland
 - Bis 15 Jahre nur mit Erziehungsberechtigtem (m/w/d)
 - Personalausweis und – falls vorhanden – Impfbuch mitbringen
 - Kreisimpfzentrum Seegartenstraße, Bad Mergentheim
 - Dem Parkleitsystem folgen, kein Navi verwenden
- ... sich selbst und andere schützen!*



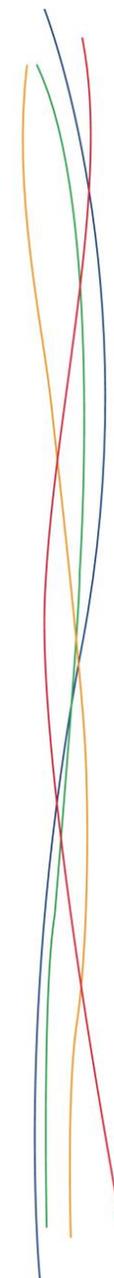


mRNA

Wir verwenden Boten-Ribonukleinsäure (messenger RNA, mRNA), um **genetische Informationen an Zellen zu liefern**, wo sie zur Produktion von Proteinen für therapeutische Zwecke verwendet werden. Mit vier mRNA-Formaten entwickeln wir ein Portfolio an Immuntherapien und erforschen neue Formulierungen zur Entwicklung innovativer Impfstoffe für die Behandlung von Krebs und Infektionskrankheiten.

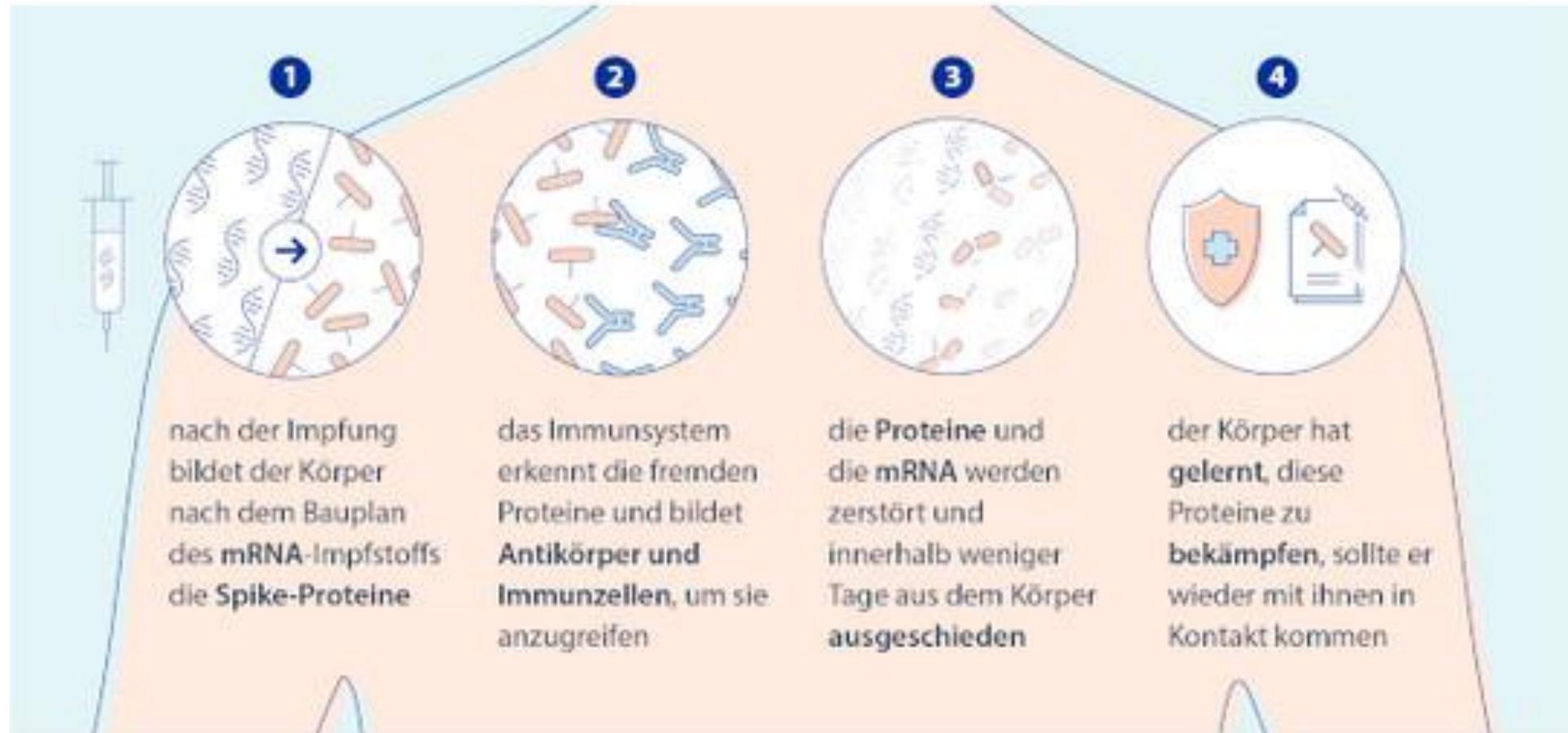


Erfahren Sie mehr



So simpel soll die „Impfung“ eine Immunantwort auslösen

Was passiert im Körper,
wenn ein mRNA-Impfstoff verabreicht wird?

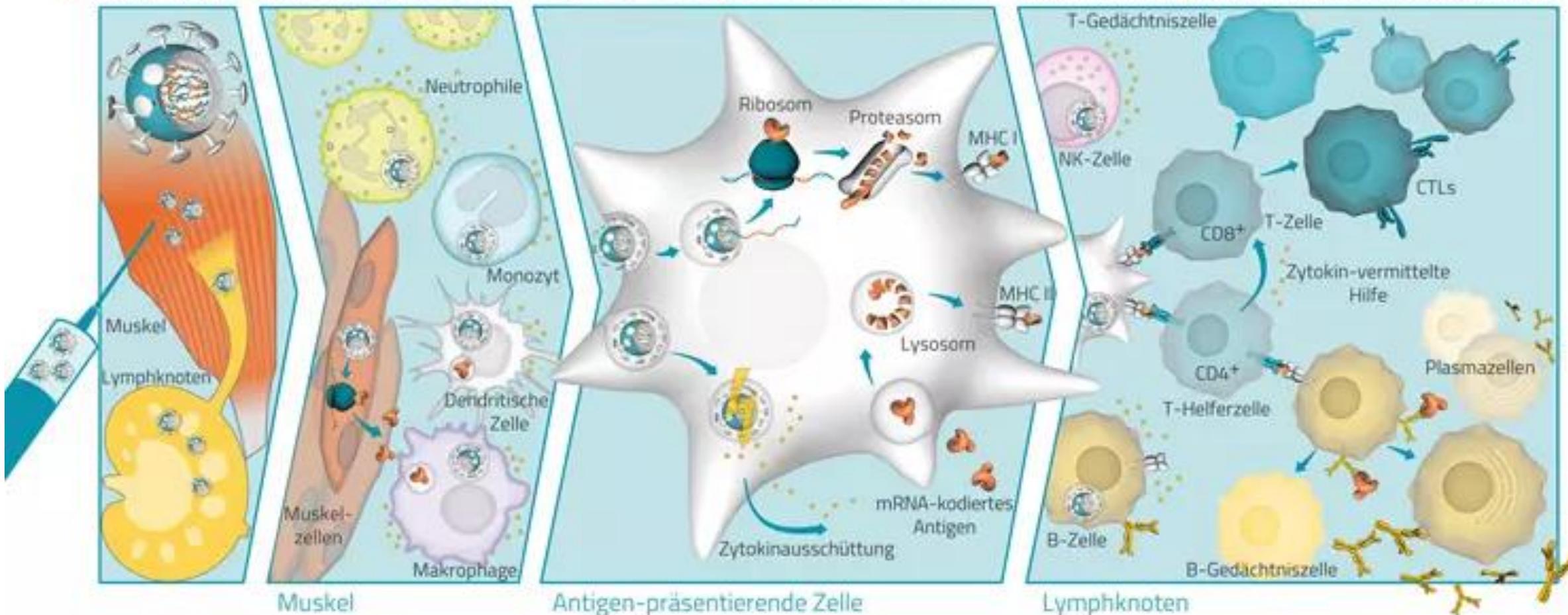


Verabreichung,
Transport zum LK

Aufnahme der mRNA-LNPs,
Infiltration von Immunzellen

Expression und Präsentation des Antigens,
Stimulation des angeborenen Immunsystems

Aktivierung des adaptiven Immunsystems,
Induktion einer zellulären und humoralen Immunantwort



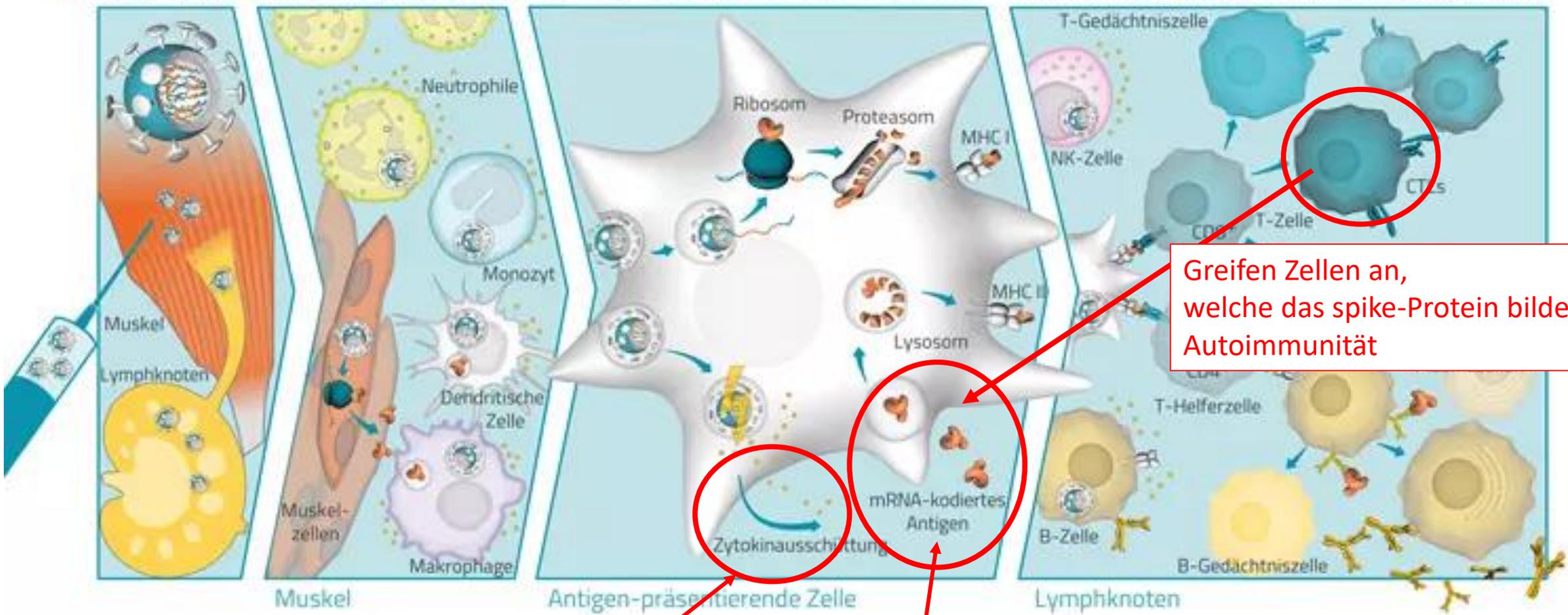
[Design und Funktionsweise von mRNA-basierten Impfstoffen zum Schutz vor Infektionskrankheiten \(trillium.de\)](https://trillium.de)

Heft 3/2019, Bericht von Curevac:

„Durch die Möglichkeit einer schnellen, flexiblen und verhältnismäßig günstigen Produktion, haben mRNA-basierte Impfstoffe das Potential, zukünftige pandemische Infektionskrankheiten effizient zu bekämpfen.“

Wunsch und Wirklichkeit

Verabreichung, Transport zum LK Aufnahme der mRNA-LNPs, Infiltration von Immunzellen Expression und Präsentation des Antigens, Stimulation des angeborenen Immunsystems Aktivierung des adaptiven Immunsystems, Induktion einer zellulären und humoralen Immunantwort



Greifen Zellen an, welche das spike-Protein bilden: Autoimmunität

Unterbleibt oder läuft falsch

Spike Protein wird auf der Zelloberfläche exprimiert UND wird frei in die Zirkulation abgegeben!

Design und Funktionsweise von mRNA-basierten Impfstoffen zum Schutz vor Infektionskrankheiten (trillium.de)

Enthält die „Vaccine“ normale messenger (m) RNA ?

Our mRNAs all contain basic structural elements that we believe are critical for successful development:

5' cap: Incorporation of a unique cap analogue into the mRNA helps to achieve superior translational performance by stabilizing the mRNA molecule and directing the immune response.

3' untranslated region: The composition and structure of the 3' untranslated regions of the mRNA molecule are important determinants of the intracellular stability of mRNA.

Poly(A) tail: We have performed extensive research on the structure of the poly(A) tail and the translational performance of mRNA and customized our template design accordingly.



Non-immunogenic vector
Strong antibody responses
Therapeutic protein delivery

NEIN!

We have profound expertise in incorporating naturally-occurring **modified nucleosides** into our therapeutic mRNAs. We have demonstrated that the presence of a variety of **modified nucleosides** in the **manufactured mRNA suppresses its intrinsic immune activation**, while leading to superior protein production for long duration. **Deimmunizing** mRNA by incorporating modified nucleosides helps to avoid production of anti-drug antibodies and broadens the therapeutic application of these types of mRNA drugs.

„Deimmunisierende“ modifizierte mRNA als Impfprinzip gegen ein gefährliches Virus????

Hier in einer wichtigen Grundlagenarbeit von Frau Kariko (seit 2013 bei Biontech in der Leitung bis September 2022)

Immunity, Vol. 23, 165–175, August, 2005, Copyright ©2005 by Elsevier Inc. DOI 10.1016/j.immuni.2005.06.008

Suppression of RNA Recognition by Toll-like Receptors: The Impact of Nucleoside Modification and the Evolutionary Origin of RNA

Katalin Karikó,^{1,*} Michael Buckstein,² Houping Ni,² and Drew Weissman²

¹Department of Neurosurgery

²Department of Medicine

University of Pennsylvania School of Medicine

Philadelphia, Pennsylvania 19104

thetic antiviral compound R-848 (Jurk et al., 2002), but a natural ligand has not been identified.

It has been known for decades that selected DNA and RNA molecules have the unique property to activate the immune system. It was discovered only recently that secretion of interferon in response to DNA

RNA, which is abundant in modified nucleosides. We conclude that nucleoside modifications suppress the potential of RNA to activate DCs. The innate immune system may therefore detect RNA lacking nucleoside modification as a means of selectively responding to bacteria or necrotic tissue.

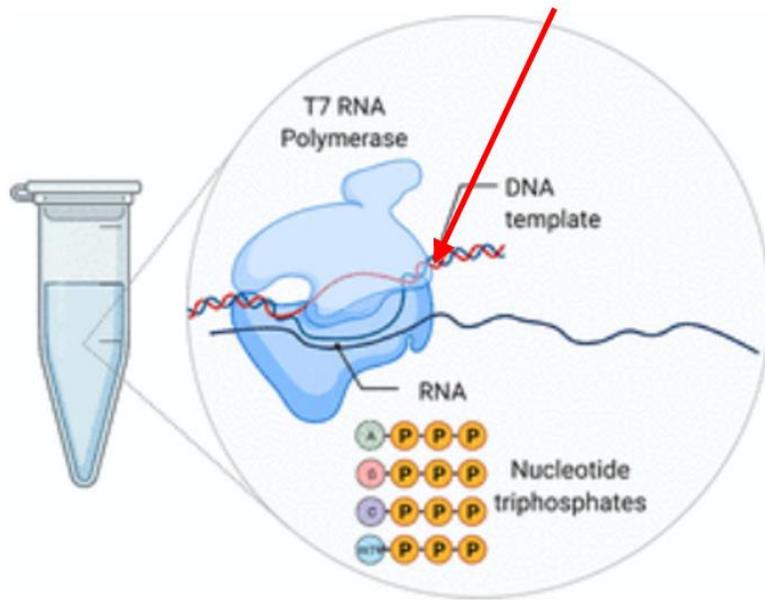
In summary, we demonstrate that selected natural RNA isolated from mammalian and bacterial cells and RNA transcribed in vitro or synthesized chemically activate human DCs and stably transformed 293 cells expressing human TLR3, TLR7, or TLR8. Such activation was reduced or completely eliminated with RNA containing naturally occurring modified nucleosides, such as m5C, m6A, m5U, pseudouridine, or 2'-O-methyl-U. Insights gained from this study could advance our understanding of autoimmune diseases where nucleic acids play a prominent role in the pathogenesis, determine a role for nucleoside modifications in viral RNA, and give future directions into the design of therapeutic RNAs.



Modifikation der RNA: modRNA

Figure 3

Plasmid DNA template



T7 RNA Polymerase reaction with m1Ψ-triphosphate

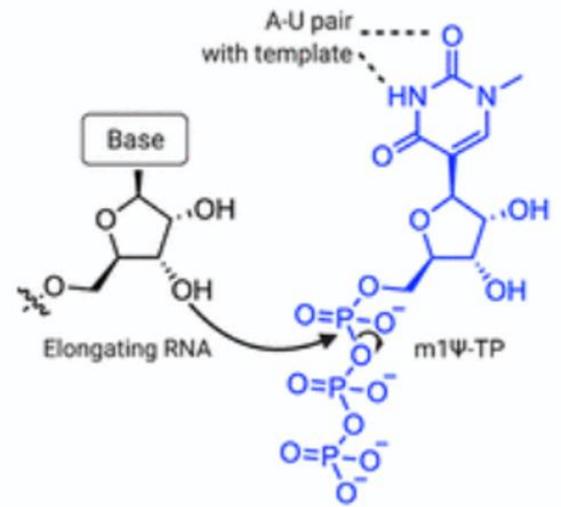
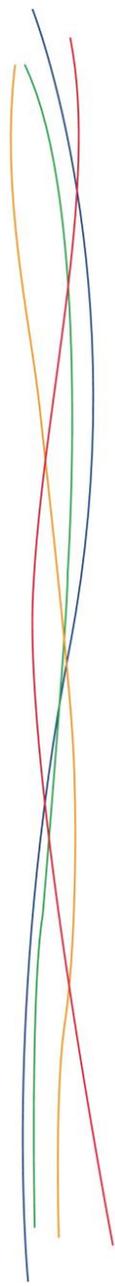
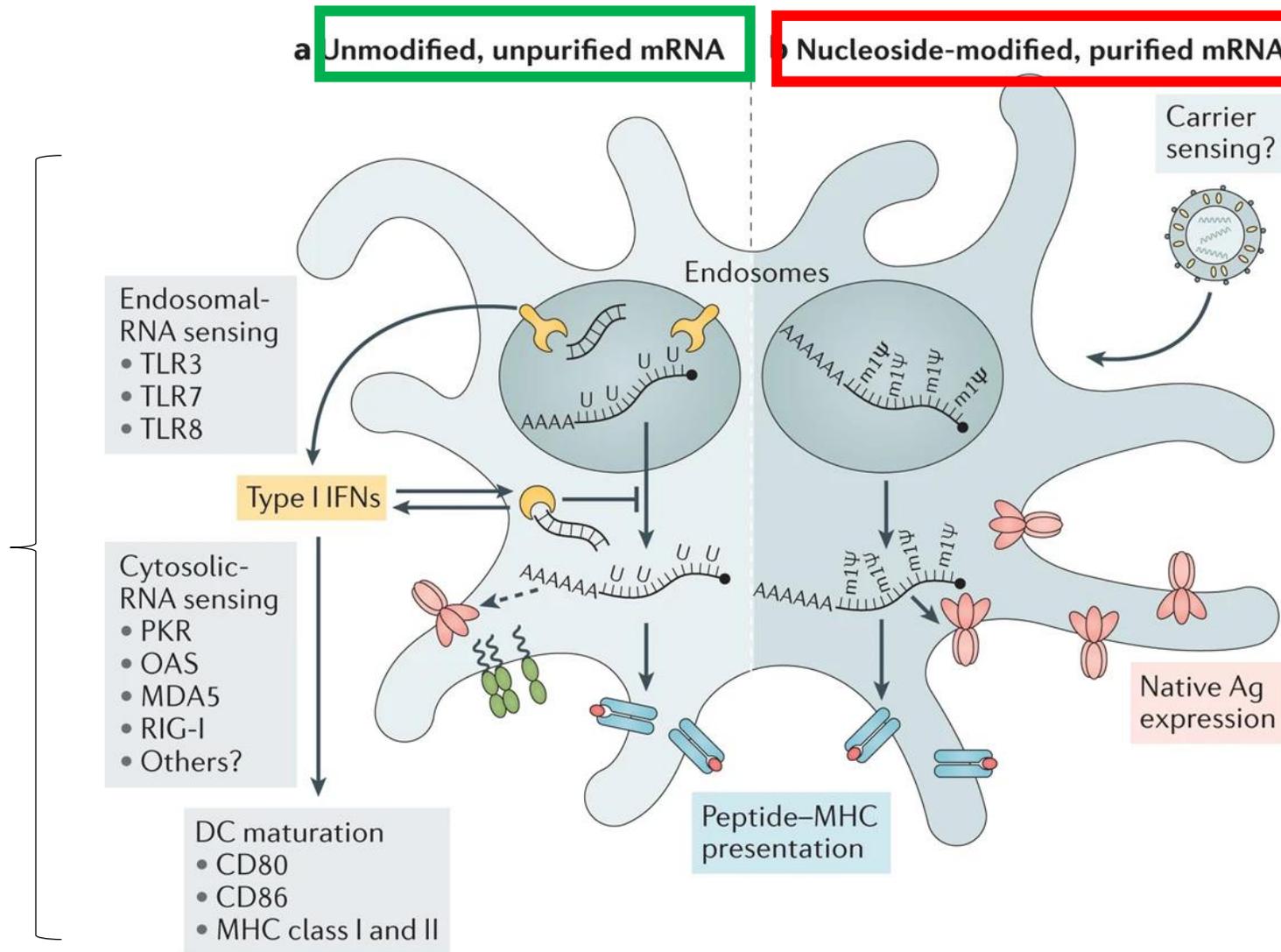


Figure 3. Production of m1Ψ mRNAs by *in vitro* transcription. Left: Components of *in vitro* transcription reaction. Right: Incorporation of m1Ψ-triphosphate into RNA is guided by m1Ψ's ability to form a canonical base pair with adenine of the DNA template in the T7 RNA polymerase active site.



Vergleich der Wirkung der normalen mRNA (das ist das, was der Öffentlichkeit erzählt wird (links)
 Mit der in den „Vaccinen“ tatsächlich eingesetzten modRNA (rechts)

Aktive
 Immunantwort
 „Entzündungs-
 reaktion“ wird
 ausgelöst



Aktive abwehrende
 Immunantwort
 wird unterdrückt

One such example are pseudouridines, which aim at suppressing RNA-mediated immune activation while improving the translational capacity and stability of the RNA

Fazit:

1. Die Lipidhülle der Nanopartikel wurde gezielt so ausgesucht, dass diese von der Injektionsstelle im Muskel in die Lymphknoten wandern (Achsellymphknoten oft geschwollen)
2. Die mRNA wurde technisch so modifiziert, dass sie
 - nicht schnell abgebaut wird (bleibt tage bis Wochen stabil)
 - dass sie über lange Zeit die Zellen veranlassen kann, große Mengen an Spike Protein zu bilden
 - dass sie keine Immunaktivierung in Dendritischen Zellen auslöst
(Aktive Unterdrückung der TLR 7/8- Mechanismen)

Hiermit wird die Zentrale Schlüsselzelle der Immunantwort in eine effektive Proteinfabrik umgewandelt,
aber

in ihrer Rolle als aktive Immunregulatoren (und vor allem hier: Steuerung einer aktiven Immunabwehr) ausgeschaltet:

Und durch die Spike Produktion werden diese DCs selber zum Ziel der Killerzellen



Allgemeine Aussage: Die mRNA der „Impfung“ bleibt nur kurz an der Impfstelle im Muskel..... Wirklich????

Sahin U, Nat. Rev. Drug. Discov. 2014;13:759



Further supported by the immune system, mRNA. Moreover, professional antigen-presenting cells, which are the targets for mRNA-based vaccine delivery, are constitutively equipped with a specialized mechanism for mRNA uptake. Beyond applications for cancer immunotherapy, mRNA-based vaccine development may also create opportunities to manage newly emerging pandemics. Recent progress in synthetic DNA technol-

<https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/121745/Biontech-Nanopartikel-sind-schwieriger-herzustellen-als-mRNA>

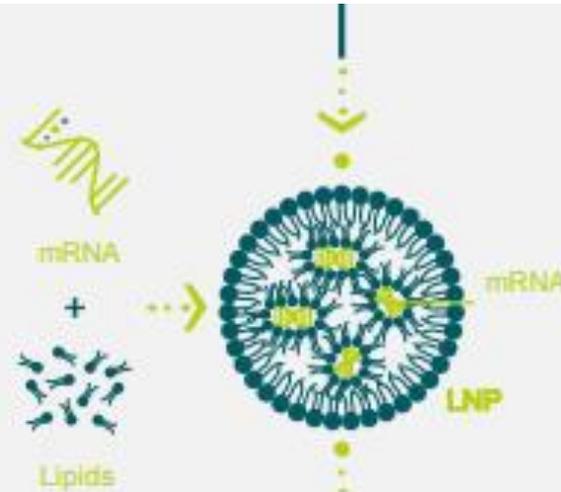
Der Onkologe und Impfstoffforscher betonte, der eigentliche Wirkstoff des Vakzins, die mRNA, ließe sich „innerhalb von Stunden herstellen“. **Die Herausforderung liege vielmehr in der Herstellung der Nanopartikel, die die mRNA umhüllten und an ihren Zielort – vor allem **Dendritische Zellen in Lymphknoten** – transportieren sollen.**

Je nachdem, wie diese Lipid-Nanopartikel an der Oberfläche konstruiert sind, verhalten sie sich unterschiedlich. **Sahin:** **"Für den Covid-19-Kandidatimpfstoff haben wir Lipid-Nanopartikel gewählt, **die eine Wanderung aus den Muskelzellen in Lymphknoten begünstigt. Dendritische** (Antigen-präsentierende; Anm.) **Zellen** präsentieren dann das entstandene S-Protein dem Immunsystem.**

<https://www.diepresse.com/5861311/teil-des-covid-19-impfstoffes-konnte-aus-osterreich-kommen>

Bestätigung: Lipide sollen in die Lymphknoten und Immunzellen

03 Formulation

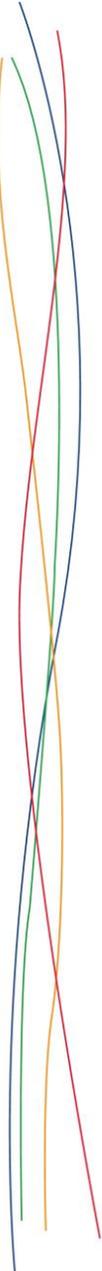


The mRNA in the drug substance needs to be appropriately formulated to ensure the delivery of the RNA to the particular target cells and is critical to protect the encapsulated mRNA from degradation after injection into the human body. Therefore, the mRNA is combined with a mixture of lipids to form lipid nanoparticles (LNP). The lipids in the BNT162b2 mRNA formulation are selected to deliver the drug substance to lymphatic cells to induce the immune response against the SARS-CoV-2 protein. The LNPs in the solution give the vaccine a slightly turbid appearance.

04 Fill & Finish



The final manufacturing step is a sterile filtration and filling of the vaccine into vials. The vials are labelled and undergo a strict quality control before packaging. About 200 multi-dose vials fit in one carton and can then be shipped to the sites where individuals will be vaccinated. On site, the mRNA-LNP formulation will be diluted with saline to adjust the concentration prior to the intramuscular injection.



Und das auch noch: Kontamination mit Plasmiden!!!!

Der SV40 Promotor erlaubt es, dass das Gen für die Antibiotikaresistenz auch in eukaryonten Zellen aktiv sein kann, diese müssen dann das entsprechend SV40 Virus Oder ein nahe verwandtes Virus tragen.

Frage: was macht das Plasmid in Eukaryonten Zellen?????

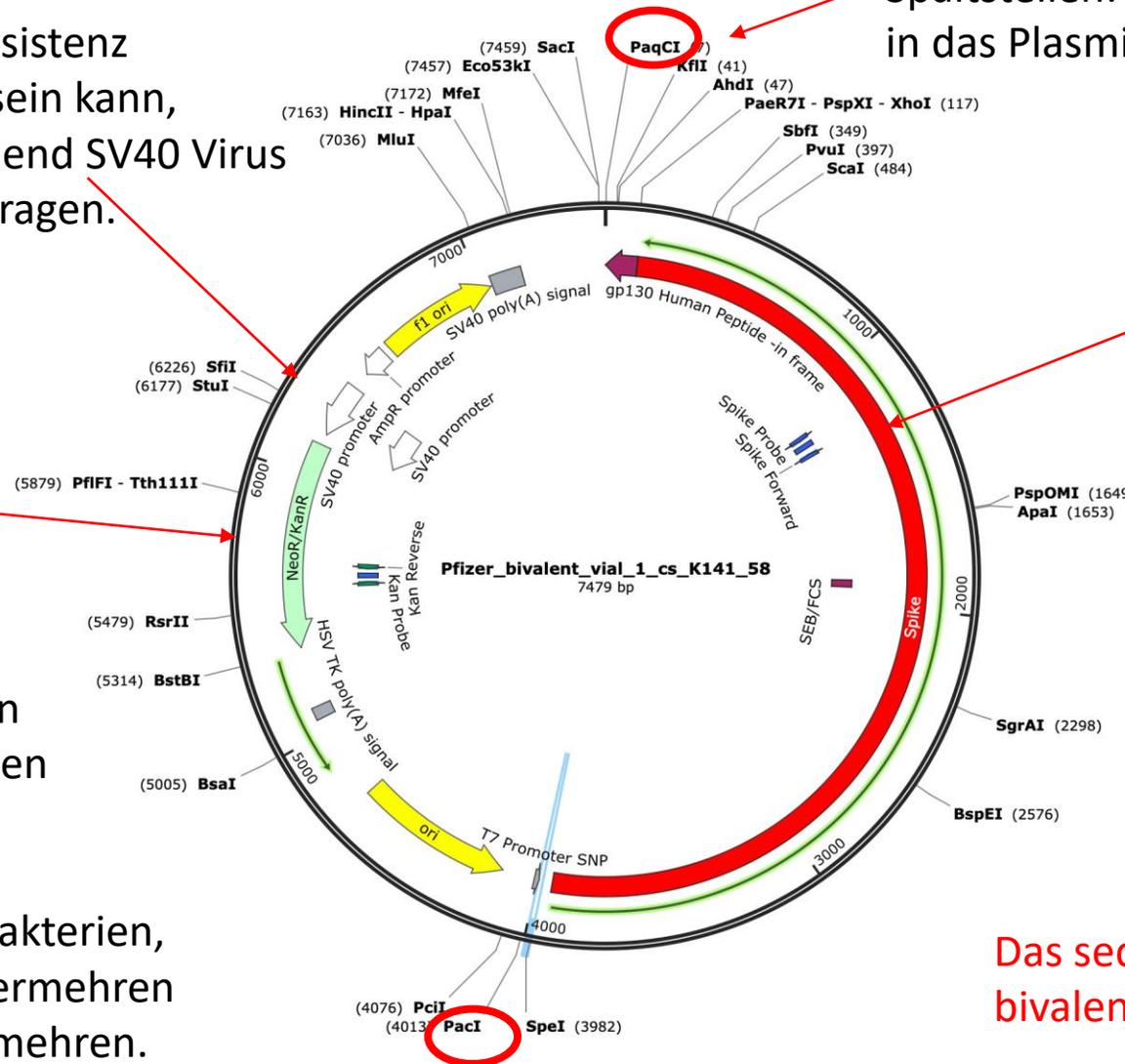
Gen für die Resistenz gegen Neomycin/Kanamycin: Sogenannter Selektionsmarker. Nur Bakterien die diese Plasmid aufgenommen haben, bekommen die Eigenschaft, auf dem ansonsten für sie tödlichen Antibiotikum zu wachsen..

So wird sichergestellt, dass alle Bakterien, die sich in Kanamycin-Medium vermehren auch das Plasmid haben und vermehren.

Verschiedene sogenannte Restriktionsenzym-Spaltstellen: hier können mit Enzymen Gene in das Plasmid eingebaut werden

Geninformation für das Spike –Protein. Dieses Gen ist der Ausgangspunkt für die „Impf“-RNA Herstellung

Das sequenzierte Plasmid aus der bivalenten Impflösung von Pfizer.

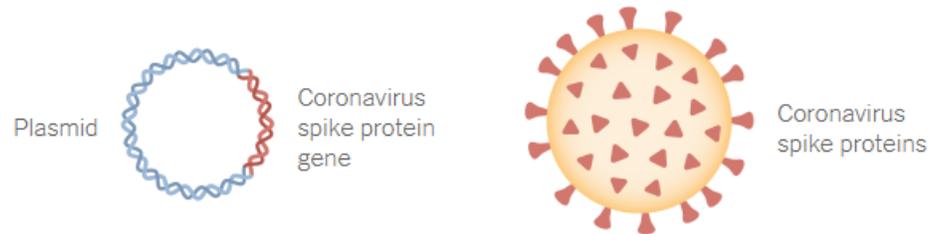


Wie kommen Plasmide in die RNA-Injektionslösungen?

Wurde bereits 2021 in der New York Times detailliert dargestellt:

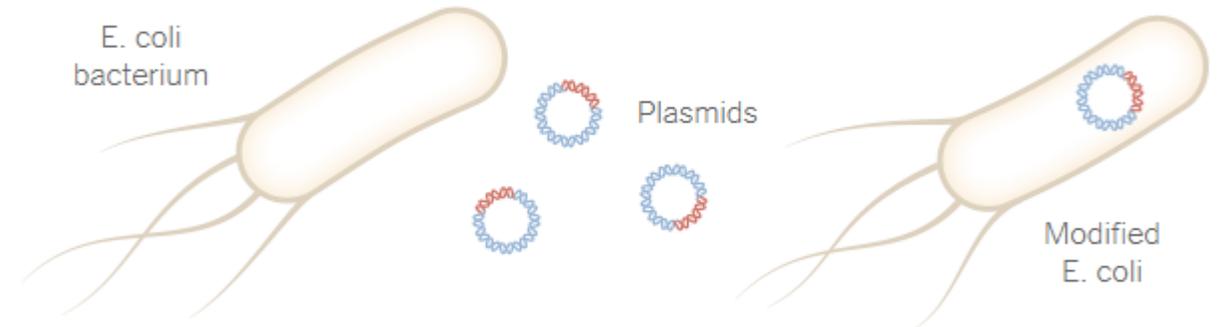
<https://www.nytimes.com/interactive/2021/health/pfizer-coronavirus-vaccine.html>

A scientist removes vials of DNA from the master cell bank, the source of every batch of Pfizer's Covid-19 vaccine. The vials are kept at -150°C (-238°F) or below, and contain small rings of DNA called plasmids.



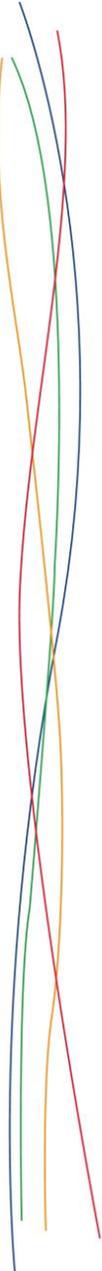
Each plasmid contains a coronavirus gene, the genetic instructions for a human cell to build coronavirus proteins and trigger an immune response to the virus.

Scientists thaw the plasmids and modify a batch of *E. coli* bacteria to take the plasmids inside their cells.



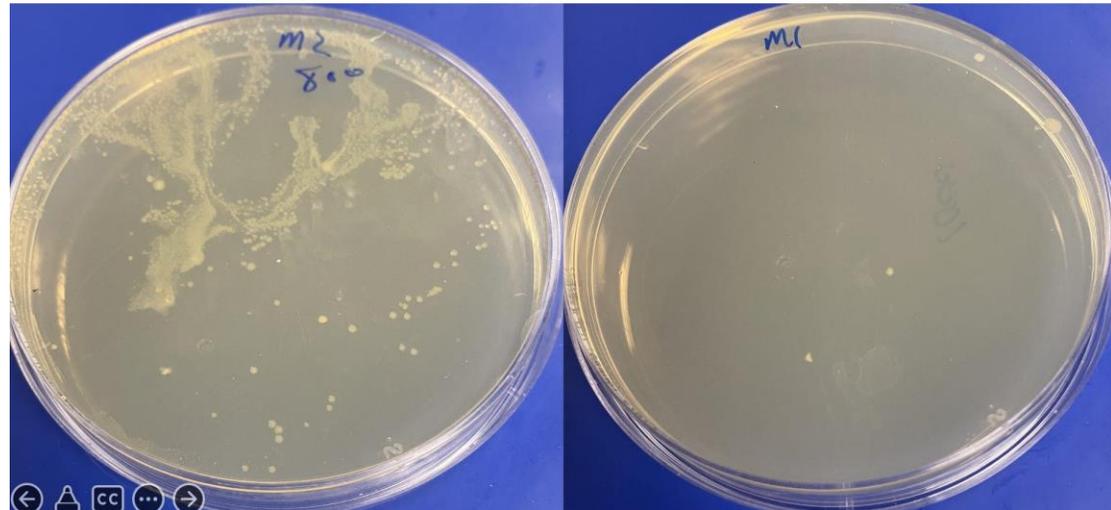
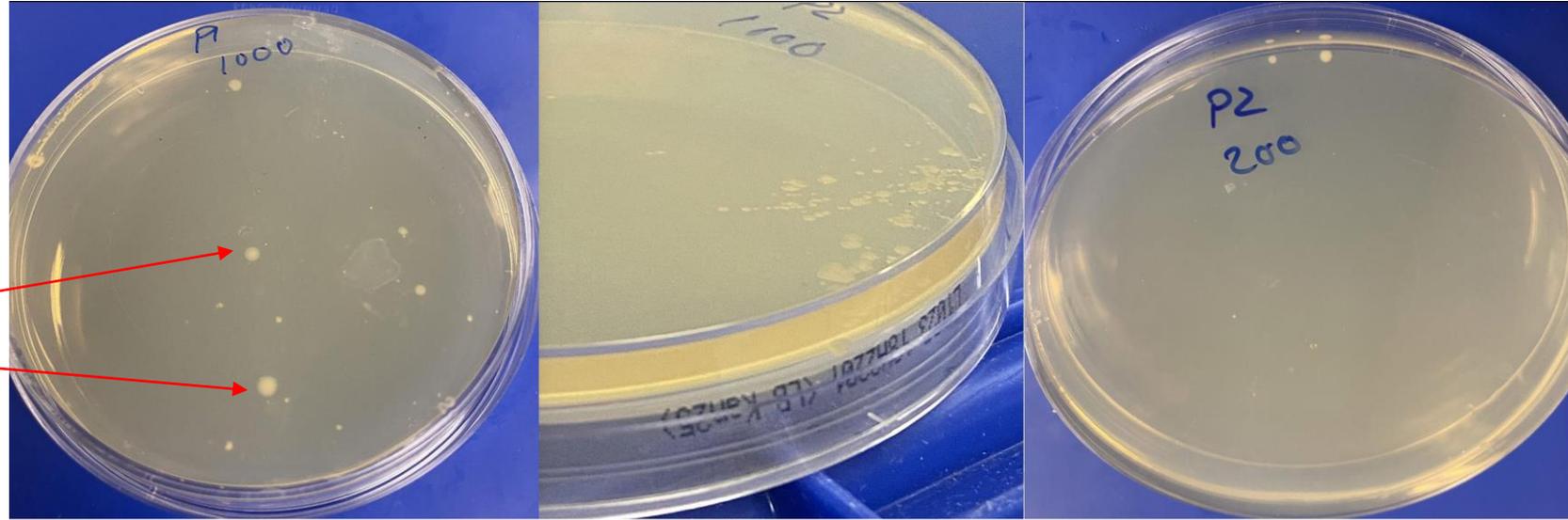
A single vial can eventually produce up to 50 million doses of the vaccine.

Jedes Plasmid beinhaltet ein Coronavirus-Gen, die genetischen Anleitungen für eine menschliche Zelle, um Coronavirus- Proteine zu bilden und so eine Immunantwort gegen das Virus zu triggern.



Beweis, dass komplette Plasmide in den Pfizer und Moderna „Vaccinen“ enthalten sind:
Bakterien die mit den „Vaccinelösungen“ behandelt wurden, wachsen auf Kanamycin-haltigen Anzuchtplatten.
Dies ist nur möglich, wenn sie komplette Plasmide mit der Geninformation „Kanamycinresistenz“ aufgenommen haben.

Bakterienkulturen



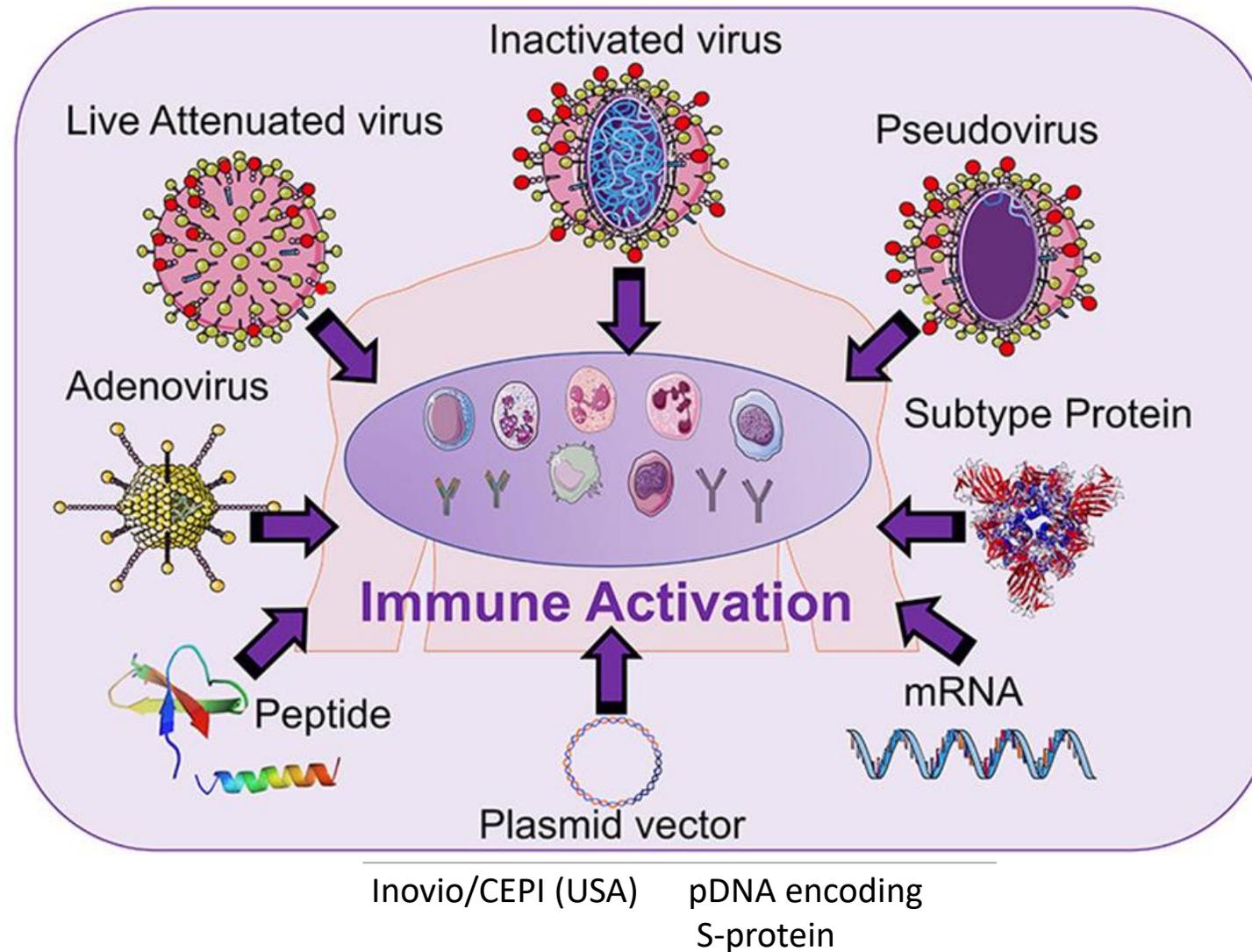
NEBExpress Kan sensitive *E.coli* cells heat shocked with 5ul of DNA derived from 100ul of RNase-A treated vaccine. Plated on LB agar with Kanamycin.

P= Pfizer
M= Moderna



Möglichkeiten der „Vaccinen“ gegen SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 Vaccine Development: An Overview and Perspectives



Vielen Dank!

Life in the labs

Are you
going to get
vaccinated?

You're crazy! They
haven't finished
human trials!

